



Culture Media



TBX-Chromogen- Nährboden

Tryptone Bile
X-Gluc Agar



TBX-Chromogen-Nährboden dient dem Nachweis und zur Koloniezahlbestimmung von *Escherichia coli* aus Lebensmitteln.

NORMKONFORM

- Die Rezeptur entspricht dem Trypton-Galle-Glucuronid-Medium gemäß der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB Untersuchung von Lebensmitteln: Horizontales Verfahren für die Zählung von β -Glucuronidase-positiven *Escherichia coli* in Lebensmitteln
 - Teil 1: Koloniezählverfahren bei 44°C mit Membranen und 5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl- β -D-Glucuronid § 64 LFGB L 00.00-132/1:2010 (Übernahme DIN ISO 16649-1:2009-12)
 - Teil 2: Koloniezählverfahren bei 44°C mit 5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl- β -D-Glucuronid § 64 LFGB L 00.00-132/2:2010 (Übernahme DIN ISO 16649-2:2009-12)
- ISO 16649-1 und ISO 16649-2 sind in der Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 bzw. 1441/2007 der Kommission über mikrobiologische Kriterien als zu verwendende Referenzmethode für die Zählung von *E. coli* zitiert

DIAGNOSTISCH

- Blaugrün gefärbte *E. coli*-Kolonien können auch bei vorhandener Begleitflora leicht identifiziert werden.

SELEKTIV

- Gallensalze Nr. 3 sowie eine Bebrütung bei 44°C inhibieren die Begleitflora.

UNIVERSELL

- Der Nährboden kann sowohl im Gussplatten- als auch Oberflächenverfahren eingesetzt werden.

TBX-Chromogen-Nährboden basiert auf der Zusammensetzung des Caseinpepton-Galle-Agars. Dieser wurde ursprünglich entwickelt, um *E. coli* besonders aus gefrorenen Lebensmitteln sowie schwach Lactose-positive Stämme schneller und zuverlässiger nachweisen zu können^{3,4}.

Die hohe Spezifität im TBX-Nährboden wird durch die Inkorporation der chromogenen Substanz X-Glucuronid (X-Gluc) erzielt, das die Aktivität des Enzyms Glucuronidase nachweist. Diese Glucuronidase wird auch bei der Spaltung von MUG⁵ nachgewiesen und hat sich als hochspezifisch für *E. coli* erwiesen⁶.

Im Unterschied zu MUG, bei dem das Fluorophor aus der Zelle in den Nährboden gelangt, ist beim TBX-Nährboden das enzymatisch abgespaltene Chromophor unlöslich und reichert sich in der Bakterienzelle an. Die gesuchten, farbigen Kolonien können daher auch bei vorhandener Begleitflora leicht identifiziert werden.

Da etwa 96 – 98 % aller *E. coli*-Stämme Glucuronidase-positiv sind (ACHTUNG: *E. coli* O157 ist Glucuronidase-negativ!)⁷, können die meisten *E. coli*-Stämme anhand der Glucuronidase von anderen coliformen Keimen differenziert werden.

Bei dem im TBX-Chromogen-Nährboden enthaltenen X-Gluc handelt es sich um 5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl-β-D-Glucuronid. *E. coli* kann X-Gluc als intaktes Molekül in die Zelle aufnehmen. Intrazellulär wird X-Gluc durch die Glucuronidase in das Chromophor und Glucuronid gespalten. Das abgespaltene Chromophor ist farbig und reichert sich in den Zellen an, so daß die *E. coli*-Kolonien blaugrün gefärbt werden. Die gefärbten Kolonien sind nach 24 Stunden Bebrütung deutlich sichtbar, weitere Identifizierungsschritte sind nicht erforderlich.

TBX-Chromogen-Nährboden kann sowohl im Gussplatten- als auch im Oberflächen-Verfahren eingesetzt werden. Eine Voranreicherung oder das Auflegen von Membranfiltern für eine anschließende Bestätigung mittels Indol-Reagenz ist nicht notwendig. Bei Bedarf können die im Wiederbelebungsverfahren oder bei Filtrierungstechniken üblichen Membranfilter aufgelegt werden.



§ Zusätzliche Hinweise

Anwender können entweder ISO 16649-1 oder ISO 16649-2 auswählen, da jeder Teil für die allgemeine Anwendung vorgesehen ist. Bei Lebensmitteln, die möglicherweise gestresste Zellen enthalten, sollte jedoch ISO 16649-1 angewendet werden.

Typische Zusammensetzung:

	g/l
Caseinpepton	20,0
Gallensalze Nr. 3	1,5
X-Gluc (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronid)	0,075
Agar	15,0
pH 7,2 ± 0,2 bei 25°C	

Zubereitung Trockennährboden:

36,6 g TBX-Chromogen-Nährboden in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren. Auf 50 °C abkühlen lassen und Platten gießen (15 ml je Petrischale).

Kulturverfahren

Folgendes Verfahren ist eine Zusammenfassung der PHLS-Methode⁸:

TBX-Chromogen-Nährboden zubereiten und Oberfläche trocknen.

1. Untersuchungsmaterial 1:5 oder 1:10 z.B. mit Maximaler Wiederbelebungslösung verdünnen und in einem Stomacher oder Labormixer homogenisieren.
2. Homogenisat (z.B. 0,5 ml) auf den Nährboden pipettieren und mit einem sterilen Spatel auf der Oberfläche ausstreichen.
3. 4 Stunden bei 30 °C, anschließend 18 Stunden bei 44 °C bebrüten.
4. Die Zahl der blaugrün gefärbten Kolonien mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren und das Ergebnis als Anzahl *E. coli* je Gramm Lebensmittel ausdrücken.

Literatur

1. DIN ISO 16649-1:2009-12. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren für die Zählung von β-Glucuronidase-positiven Escherichia coli – Teil 1: Koloniezählverfahren bei 44°C mit Membranen und 5-Brom-4-Chloro-3-Indolyl-β-D-Glucuronid (ISO 16649-1:2001).
2. DIN ISO 16649-2:2009-12. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren für die Zählung von β-Glucuronidase-positiven Escherichia coli – Teil 2: Koloniezählverfahren bei 44°C mit 5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl-β-D-Glucuronid (ISO 16649-2:2001).
3. Gross, R.J. and Rowe, B. (1985) J. Hyg. Camb. 95, 513-550.
4. Anderson, J.M. and Baird-Parker, A.C. (1975) J. Appl. Bact. 39, 111-117.
5. Feng, P.C.S. and Hartmann, P.A. (1982) Appl. Environ. Microbiol. 43, 1320-1329.
6. Hansen, W. and Yourassowsky, E. (1984) J. Clin. Microbiol. 20, 1177-1179.
7. Ratnam, S., March, S. B., Almed, R., Bezanson, G. S. and Kasatiya, S. (1988) J. Clin. Microbiol. 26, 2006-2012.
8. PHLS Standard Methods for Microbiological Examination of Food, Dairy and Water Samples. F20: Direct Enumeration of Escherichia coli.

Produkte

TBX-Chromogen-Nährboden

Produkt	Packungsgröße	Art.-Nr.
TBX-Chromogen-Nährboden	10 x 90 mm Platten	P05109A
TBX-Chromogen-Agar	10 x 100 ml Flaschen	BO0194M
TBX-Chromogen-Nährboden	500 g	CM0945B

Mineralien-modifizierter Glutamat-Agar (MMGA)

Glutamat-Nährlösung-Basis 500 g CM0607G

zum Lieferumfang gehört Natriumglutamat (LP0124)
Hinweis: Zusatz von Agar und Ammoniumchlorid erforderlich

Agar Nr. 1 (Bakteriologischer Agar) 500 g LP0011B

Membranfilter 50 Stück GFM01
(Nitrocellulose) Ø 85 mm, Porengröße 0,45 µm

Verdünnung

Kochsalz-Pepton-Lösung (Maximale Wiederbelebungslösung) oder Peptonwasser

zur Verdünnung sind in verschiedenen Ausführungen einschließlich Trockennährböden und Fertignährböden wie z.B. Röhrchen, 225 ml Flaschen, 3 l Fertigbeuteln und 20 l Dry-Bags™ erhältlich.

Qualitätskontrollorganismen – Culti-Loops™

<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™†	5 Impfösen	CL7050
<i>Klebsiella oxytoca</i> ATCC® 49131™†	5 Impfösen	CL7019

Weitere Informationen über diese Produkte sind unter www.oxid.com erhältlich

† ATCC Licensed Derivative The ATCC Licensed Derivative Emblem®, the ATCC Licensed Derivative word mark®, and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Oxoid Ltd is licensed to use these trademarks and sell products derived from ATCC® cultures.

Leistungsbeschränkungen

In vitro-Diagnostikum. Das Produkt darf nach Ablauf der Haltbarkeit bzw. bei Anzeichen eingeschränkter Leistungsfähigkeit nicht mehr eingesetzt werden. Das Medium sollte durch den Anwender unter Laborbedingungen validiert werden.

E. coli mit Wiederbelegung: DIN ISO 16649-1:2009 §

1,0 ml Untersuchungsprobe bzw. Dezimalverdünnungen

↓ ausspateln auf (2 Platten je Verdünnungsstufe):

aufgelegter Cellulose-Membran auf Oberfläche von Mineralien-modifizierten Glutamat-Agar (MMGA)

↓ 15 min Standzeit, dann 37°C, 4 ± 0,5 h *

Membran überführen auf

↓ TBX-Chromogen-Agar

* Membran/Agar-Oberfläche oben

↓ 44°C, 18 - 24 h *

Zählung typischer Kolonien: *E. coli* = blaue Kolonien

E. coli ohne Wiederbelegung: DIN ISO 16649-2:2009 §

Probe

↓ Homogenisierung und Verdünnungsreihe

↓ Gusskultur (je 1 ml)

↓ (2 Platten je Verdünnungsstufe)

↓ TBX-Chromogen-Agar (15 ml)

↓ 44°C#, 18 - 24 h

Zählung typischer Kolonien: *E. coli* = blaue Kolonien

Bei gestressten Zellen erst 4 h bei 37°C, dann 18 – 24 h 44°C bebrüten

Oxoid und Remel sind Spezialmarken von Thermo Fisher Scientific für die Mikrobiologie. Unsere Produkte sind weltweit verfügbar.

www.oxid.com
Tel. +49 (0)281 152-0 Fax.: +49 (0)281 152-1
Email: oxid.de.servicecenter@thermofisher.com

© 2011, Thermo Fisher Scientific Inc. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific, Inc. and its subsidiaries.
Copyright to photos held separately. All rights reserved.



Part of Thermo Fisher Scientific