

T.B.X. AGAR

Selective and chromogenic medium for *E. coli* detection in food according to ISO 16649-2.

TYPICAL FORMULA (g/L)

Tryptone	20.0
Bile salts no.3	1.5
Agar	14.0
X-GLUC	75.0 mg
final pH	7.2 +/- 0.2

DESCRIPTION

T.B.X. AGAR is recommended by ISO 16649-2 to detect *Escherichia coli* in products for human or animal consumption by 44 °C incubation and by inclusion or superficial inoculation method. Otherwise, the medium can be inoculated by membrane filtration, according to conventional methods.

PRINCIPLE

Bile salts inhibit the growth of Gram positive bacteria. The chromogenic substratum X-GLUC (5-bromo-4-chlor-3 indolil- β -D-glucuronide), has a differentiating action: the hydrolysis of such substratum, through the β -glucuronidase enzyme, causes a blue-green color pigment formation.

PREPARATION

Suspend 35.6 g powder into 1 liter of distilled or deionized water. Autoclave at 121 °C for 15 min. Cool till about 50 °C. Dispense into Petri dishes.

TECHNIQUE

The procedure recommended by ISO 16649-2 is the following:

- Inoculate into 90 mm plates, 1 ml of sample suspension and 1 ml of its decimal dilutions
- Add 15 ml roughly of medium thermostated at 47-50 °C
- Mix carefully the inoculum with the medium.
- Incubate at 44 °C for 18-24 hours. In case of suspect presence of stressed colonies, pre-incubate for 4 hours at 37 °C before incubating at 44 °C. Do not exceed the temperature of 45 °C.
- Count the blue and green-blue colonies as presumptive *E. coli*
- Indicate results as CFU/g considering the "dilution factor"

INTERPRETATION OF RESULTS

E. coli, among the enterobacteria, is one of the few β -glucuronidase positive species, together with some strains of *Salmonella* and *Shigella*, therefore grows on medium with blue or green-blue colonies. The β -glucuronidase negative enterobacteria grow with colourless colonies.

STORAGE CONDITIONS

10-30 °C away from light, until the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product is classified as hazardous by current legislation. It is recommended that the Safety Data Sheets be consulted before use.

The product must be used only by properly trained operators.

Previously to the use be sure the product has not signs of deterioration or contamination.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to current national and local regulations

REFERENCES

ISO 16649-2 (2001): *Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of E. coli – Part 2: colony count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronic acid.*



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

T.B.X. AGAR

PRESENTATION

Dehydrated culture medium.

STORAGE

10-30°C

PACKAGING

Code	Content	Packaging
610224	500 g	500 g powder in plastic bottle
620224	100 g	100 g powder in plastic bottle

pH OF MEDIUM

7.2 ± 0.2

USE

T.B.X. AGAR is recommended by ISO 16649-2 for detecting presumptive *Escherichia coli* in products for human consumption or for animal feeding with incubation at 44 °C and by inclusion or superficial inoculation method.

The medium can be inoculated also by filtration membrane, referring to the conventional methods.

TECHNIQUE

Refer to the technical sheet of the product.

APPEARANCE OF THE MEDIUM

dehydrated medium

Appearance: homogeneous.

Color: creamy white

Ready medium

Appearance: clear

Color: white

VALIDITY

2 years.

QUALITY CONTROL FOR THE USER

1. Control of general characteristics, label and print

2. Sterility control

7 days a 25 ± 1 °C, in aerobiosis

7 days a 36 ± 1 °C, in aerobiosis

3. Microbiological control

Inoculum for productivity: 10-100 UFC/ml









Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁵ UFC/ml

Inoculum for specificity: ≤ 10⁴ UFC/ml

Incubation conditions: 44 ± 1 °C for 18-24 hours

Microorganism		Growth	Color of colonies
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	good/very good	green-blue
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	good/very good	colorless
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 19433	Inhibited	

TABLE OF SYMBOLS

SYMBOL	MEANING
	Catalogue number
	Manufacturer
	Kit content
	Use by
	Batch code
	Keep away from heat
	Consult accompanying documents
	Temperature limitation



T.B.X. AGAR

Terreno selettivo e cromogenico per la determinazione di *E. coli* negli alimenti in accordo a ISO 16649-2.

COMPOSIZIONE TIPICA (g/L)

Tryptone	20.0
Sali biliari n.3	1.5
Agar.	14.0
X-GLUC	75.0mg
pH finale 7.2 +/- 0.2	

DESCRIZIONE

T.B.X. AGAR è indicato da ISO 16649-2 per la determinazione di *Escherichia coli* presunta nei prodotti destinati al consumo umano o per l'alimentazione animale con incubazione a 44°C e con metodo di semina per inclusione o in superficie. Il terreno può essere inoculato anche impiegando le membrane filtranti, seguendo i metodi convenzionali.

PRINCIPIO

I sali biliari inibiscono la crescita dei batteri gram positivi. Il substrato cromogenico X-GLUC (5-bromo-4-cloro-3 indolil-β-D-glucuronide), svolge un'azione differenziale: l'idrolisi di tale substrato, attraverso l'enzima β glucuronidasi, dà luogo alla formazione di un pigmento blu-verde.

PREPARAZIONE

Sospendere 35.6 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata. Autoclavare a 121°C per 15 min. Raffreddare fino a circa 50 °C. Dispensare in piastre Petri.

TECNICA

La procedura raccomandata da ISO 16649-2 è la seguente:

- Seminare in piastre da 90 mm, 1 ml della sospensione del campione e 1 ml delle sue diluizioni decimali
- Aggiungere circa 15 ml di terreno termostato a 47-50 °C
- Mescolare bene l'inoculo con il terreno
- Incubare a 44 °C per 18-24 ore. In caso di sospetta presenza di colonie stressate, pre-incubare per 4 ore a 37 °C prima dell'incubazione a 44 °C. Non superare mai la temperatura di 45 °C.
- Contare come *E. coli* presunto le colonie blu o verde-blu
- Esprimere i risultati come UFC/g tenendo conto del "fattore diluizione"

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

E. coli, tra gli enterobatteri, è una delle poche specie β-glucuronidasi positiva, insieme a qualche ceppo di *Salmonella* e *Shigella*, e quindi coltiva sul terreno con colonie blu o verde-blu. Gli enterobatteri β glucuronidasi negativi coltivano con colonie incolore.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

10-30 °C al riparo dalla luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento o contaminazione.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto è classificato come non pericoloso ai sensi della legislazione vigente; per un suo uso corretto si consiglia di consultare la scheda di sicurezza e deve essere utilizzato da parte di personale qualificato.

Prima dell'uso assicurarsi che il prodotto non presenti segni di deterioramento ed inquinamento

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

ISO 16649-2 (2001): *Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of E. coli – Part 2: colony count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronic acid.*



Liofilchem s.r.l.

Via Scozia, Zona industriale - 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy - Tel. +39.0858930745 - Fax +39.0858930330
Web site: <http://www.liofilchem.net> - E-mail: liofilchem@liofilchem.net

SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

T.B.X. AGAR

PRESENTAZIONE

Terreno disidratato.

CONSERVAZIONE

10-30°C

CONFEZIONAMENTO

Codice	Contenuto	Modalità di confezionamento
610224	500 g	500 g di polvere in flacone in plastica
620224	100 g	100 g di polvere in flacone in plastica

pH DEL TERRENO

7.2 ± 0.2

IMPIEGO

T.B.X. AGAR è indicato da ISO 16649-2 per la determinazione di *Escherichia coli* presunta nei prodotti destinati al consumo umano o per l'alimentazione animale con incubazione a 44°C e con metodo di semina per inclusione o in superficie. Il terreno può essere inoculato anche impiegando le membrane filtranti, seguendo i metodi convenzionali.

TECNICA

Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto.

ASPETTO DEL TERRENO

Terreno disidratato

Aspetto : omogeneo.

Colore: bianco-crema

Terreno pronto

Aspetto: chiaro

Colore: biancastro

VALIDITA'

2 anni.

CONTROLLO DI QUALITA' PER L'UTILIZZATORE

1. Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa

2. Controllo sterilità

7 giorni a 25 ± 1 °C, in aerobiosi

7 giorni a 36 ± 1 °C, in aerobiosi

3. Controllo microbiologico

Dimensione dell'inoculo per produttività: 10-100 UFC/ml

Dimensione dell'inoculo per selettività : 10⁴-10⁵ UFC/ml

Dimensione dell'inoculo per specificità: ≤ 10⁴ UFC/ml

Condizioni di incubazione: 44 ± 1 °C per 18-24 ore

Microorganismo		Crescita	Colore colonie
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	buona/molto buona	Verde-blu
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	buona/molto buona	Incolore
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 19433	Inibito	

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	Limiti di Temperatura	Fabbricante	Contenuto sufficiente per <n> saggi
REF Numero di catalogo	Tenere lontano dal calore	Utilizzare entro	Consultare le istruzioni per l'uso



Liofilchem s.r.l.

Via Scozia, Zona industriale - 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy - Tel. +39.0858930745 - Fax +39.0858930330
Web site: <http://www.liofilchem.net> - E-mail: liofilchem@liofilchem.net