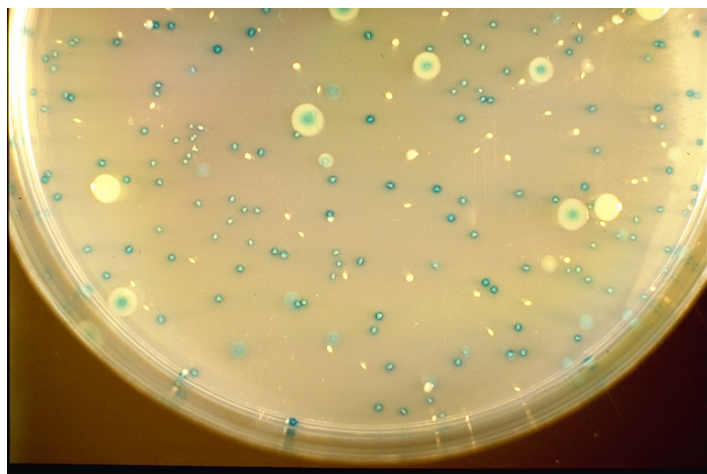




TRYPTONE BILE X-GLUC (TBX) AGAR

Terreno selettivo e cromogenico in polvere e pronto all'uso in piastra, flacone e provetta per la determinazione di *E.coli* β -glucuronidasi positivo negli alimenti (ISO 16649)



TBX Agar: *E.coli* (colonie blue) ed *E.aerogenes* (colonie incolori)

FORMULA TIPICA (g/L)

| | |
|--|-------|
| Tryptone (digerito enzimatico di caseina) | 20 |
| Sali biliari n. 3 | 1,5 |
| Agar | 14 |
| 5-bromo-4-cloro-3-indolil β -D glucuronide (X-GLUC) ^b | 0,075 |

Nota:

a: l'uso del dimetilsolfossido indicato dalla norma non si rende necessario essendo il composto X-GLUC incluso nel terreno

b: sale di cicloesilammonio

pH finale 7.2 ± 0.2

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 35,6 g in 1000 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione fino a completa soluzione, quindi autoclavare a 121 °C per 15 minuti. Raffreddare a 44-47 °C e distribuire in piastre Petri sterili.

PREPARAZIONE DEL TERRENO PRONTO IN FLACONE E PROVETTA

Sciogliere il contenuto del flacone per bollitura in bagnomaria termoregolato. Raffreddare a 44-47 °C e distribuire in piastre Petri sterili.

DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar è indicato da ISO 16649-1, 16649-2 e 16649-3 per il conteggio di *E.coli* β -glucuronidasi positivo nei prodotti destinati al consumo umano o per l'alimentazione animale con incubazione a 44 °C e con metodo di semina per inclusione (parte 2 della norma) o con metodo delle membrane filtranti (parte 1 della norma) e per la tecnica del MPM-Most Probable Number (parte 3).

Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar, è un terreno selettivo e cromogenico; l'azione selettiva è dovuta alla presenza dei sali biliari, inibitori per i batteri Gram positivi; l'azione differenziale è esplicata dal substrato cromogenico X-GLUC (5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucuronide), l'idrolisi del quale, attraverso l'enzima β -glucuronidasi, dà luogo alla formazione di un pigmento blu-verde.

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.

Gli enterobatteri β -glucuronidasi negativi coltivano con colonie incolori.

IMPIEGO

SEMINA PER INCLUSIONE

- Seminare in duplicato, in piastre da 90 mm, 1 mL della sospensione del campione e, se necessario, 1 mL delle sue diluizioni decimali
- Aggiungere circa 15 mL di terreno termostato a 44-47 °C; questa operazione deve essere effettuata non oltre i 15 minuti dalla deposizione dell'inoculo nelle piastre
- 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* β -glucuronidasi positivo le colonie blu nelle piastre in cui vi siano non più di 150 colonie tipiche e non più di 300 colonie totali (tipiche e non tipiche).
- Esprimere i risultati come UFC/g tenendo conto del "fattore diluizione", seguendo le indicazioni espresse dalle norme citate



SEMINA SU MEMBRANA FILTRANTE

- Trasferire due membrane sterili sulla superficie di 2 piastre di Minerals Modified Glutamate Agar (MMGA- REF 401737) .
- Inoculare nel centro della membrana 1 mL di campione o 1 mL di sospensione madre.
- Strisciare l'inoculo su tutta la superficie della membrana evitando di andare oltre i bordi. Ripetere l'operazione, se necessario, con le diluizioni decimali.
- Lasciare le piastre a temperatura ambiente per 15 min. in modo che l'inoculo venga assorbito dal terreno di coltura
- Incubare le piastre per 4 ore \pm 1 ora a 37°C.
- Dopo questa operazione di vivificazione trasferire le membrane su piastre di TBX Agar.
- Incubare le piastre di TBX Agar a 44°C per 18-24 ore. Non superare mai la temperatura di 45°C.
- Contare come *E.coli* β -glucuronidasi positivo le colonie blu nelle piastre in cui vi siano non più di 150 colonie tipiche e non più di 300 colonie totali (tipiche e non tipiche).
- Esprimere i risultati come UFC/g seguendo le indicazioni espresse dalle norme citate.

CONTROLLO QUALITÀ SUGGERITO PER L'UTILIZZATORE

Controllo produttività: *E.coli* ATCC 25922: crescita, colonie blu

Controllo specificità: *P.aeruginosa* ATCC 27853: crescita, colonie verde-beige

Controllo selettività: *E.faecalis* ATCC 19433: inibito

(Incubazione a 44°C per 24 h)

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 2-8°C al riparo della luce non oltre la data di scadenza indicate in etichetta. Una volta aperta la confezione, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. La data di scadenza si applica al terreno nelle confezioni sia chiuse che aperte conservate come sopra descritto. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

Terreno pronto all'uso in piastra, in flacone ed in provetta: conservare a 2-8°C al riparo della luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Terreno in polvere il preparato qui descritto non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente ma contiene sali biliari ad una concentrazione $>1\%$. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'uso. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione del TBX Agar deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Non ingerire.

Terreno pronto all'uso in piastra, in flacone ed in provetta: Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$.

I prodotti qui descritti devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare i materiali inoculati dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

Il Certificato d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it

BIBLIOGRAFIA

- ISO 16649-3 (2015): Microbiology of the food chain —Horizontal method for the enumeration of beta- glucuronidasepositive *Escherichia coli* — Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3- indolyl- β -D-glucuronide
- ISO 16649-2 (2001): Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase positive *Escherichia coli* -- Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide
- ISO 16649-1 (2001): Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* -- Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide

CONFEZIONI

Terreno in polvere

4021561

Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar

100 g (2.8 L)

4021562

Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar

500 g (14 L)

Terreno in flacone

5121562

Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar

6 x 100 mL (flaconi pronti all'uso)

Terreno in piastra

542156

Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar

20 piastre \varnothing 90 mm

502156

Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar

5 piastre \varnothing 150 mm

492156

Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar

30 piastre \varnothing 55 mm

Terreno in provetta

5521562S

Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar

20 x 15 mL (provette pronte all'uso)

