

## TBX CHROMOGENER-AGAR

Selektivagar zur Detektion und Zählung von *E. coli* in Lebensmittelproben

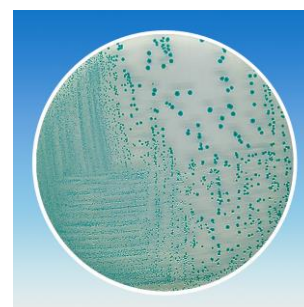
ISO 16649-2:2001

CL47

### Zusammensetzung in g/l:

Caseinpepton.....	20,0
Gallesalze .....	1,5
X-β-D-Glucuronid.....	0,075
Agar.....	15,0
pH-Wert.....	7,2 ± 0,2

*Escherichia coli*  
ATCC 25922



### HERSTELLUNG

36,6 g des Mediums werden in 1 l destilliertem Wasser suspendiert und gut gemischt. Zum Lösen unter Rühren erhitzen und ca. 1 min. aufkochen. Autoklavieren für 15 min. bei 121 °C. Leicht abkühlen lassen und in Petrischalen gießen. Kühl und dunkel (ca. 6 °C) aufbewahren.

### EINSATZGEBIET

TBX Chromogener Agar basiert auf dem Trypton-Galle-Agar (TBA, Best. Nr. CP69.1), der zur Identifikation, Detektion und Zählung von *E. coli* in Wasser- und Lebensmittelproben verwendet wird. Die Basismischung wurde optimiert durch die Zugabe eines chromogenen Agens, X-β-D-Glucuronid, das die Anwesenheit des hoch *E. coli*-spezifischen Enzyms Glucuronidase detektiert. Die in der Mischung enthaltenen Gallesalze wirken inhibitorisch auf die Gram-positive Begleitflora. Nach Bebrütung werden die Kolonien auf Pigmentbildung analysiert. *E. coli* absorbiert das chromogene Agens 5-Brom-4-Chlor-3-Indolyl-β-D-Glucuronid (X-β-D-Glucuronid), und die intracelluläre Enzymaktivität der Glucuronidase spaltet die Bindung zwischen der Chromophoren X und dem Glucuronid. Die freigesetzte, farbige und wasserunlösliche Chromophore reichert sich in den Zellen an und erzeugt in den *E. coli* Kolonien eine grün-blaue Farbe.

Der Standard ISO 16649 spezifiziert eine Plattierungsmethode zur Zählung β-Glucuronidase positiver *E. coli* in Produkten für den menschlichen Verzehr oder in Tierfutter. Es schreibt eine Koloniezählung vor nach Inkubation bei 37 und 44 °C auf festem Nährmedium, das ein chromogenes Substrat für das Enzym β-Glucuronidase enthält. Inkubieren Sie nach dem Animpfen bei einer Temperatur von 37 und 44 °C für 18-20 Stunden. **Bitte beachten Sie:** Die hohe Inkubationstemperatur (44 °C) inhibiert das Wachstum des *E. coli* Stammes O157:H7, der β-Glucuronidase negativ ist und in also in farblosen Kolonien wächst.

*Escherichia coli* (ursprünglich *Bacterium coli commune*) sind Gram-negative, stäbchenförmige, fakultativ anaerobe Bakterien aus der Familie der Enterobacteriaceae. Nach ihnen wurde die Gruppe der coliformen Bakterien benannt. Sie kommen in der physiologischen Darmflora von Warmblütern vor. Als fakultativ pathologische Bakterien verursachen sie in anderen Organen wie den Harnwegen oder der Lunge Infektionen. Einige Stämme sind selbst darmpathogen. *E. coli* Bakterien stellen typische fäkale Verunreinigungen von Trinkwässern dar und gelten als Leitorganismus für diese Untersuchungen.

### MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen bei einer Temperatur von 37 °C und 44 °C für 18-24 Stunden.

Mikroorganismen	Wachstum (37 °C)	Wachstum (44 °C)	Koloniefarbe
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (Abbildung) *	Gut	Gut	Blau - Grün
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Inhibiert	Inhibiert	(Farblos)
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Inhibiert	Inhibiert	(Farblos)
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibiert	Inhibiert	-

\* Und andere *E. coli* Stämme. Andere Coliforme wie *Citrobacter* oder *Enterobacter* wachsen als kleine, gut ausgebildete, aber farblose Kolonien.

Nach: International Standard ISO 16649-2:2001 Microbiology of food animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of presumptive *Escherichia coli*

<b>TBX CHROMOGENER-AGAR</b>	100 g	CL47.2
	500 g	CL47.1



# Product Data Sheet

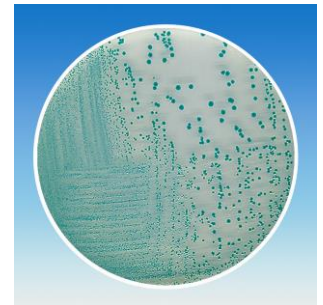
## TBX CHROMOGENIC AGAR

Selective agar for the detection of *E. coli* in water and food samples  
ISO 16649-2:2001  
CL47

### Formulation in g/l:

Casein peptone.....	20.0
Bile salts.....	1.5
X-β-D-Glucuronide.....	0.075
Agar.....	15.0
Final pH.....	7.2 ± 0.2

*Escherichia coli*  
ATCC 25922



### PREPARATION

Suspend 36.6 g of the medium in 1 l distilled water. Solubilise under heating with frequent agitation and boil for approx. 1 min. Autoclave for 15 mins. at 121 °C. Let slightly cool and pour into Petri dishes. Store in the dark at approx. 6 °C.

### USES

TBX Chromogenic Agar is based on Tryptone Bile Salts Agar (TBA, Art. No. CP69.1) used for identification, detection and enumeration of *E. coli* in food and water samples. This basic formulation has been optimised by adding a chromogenic agent, X-β-D-Glucuronide, to detect the presence of the enzyme glucuronidase, which is highly specific for *E. coli*. bile salts included in the formulation are inhibitors to the Gram positive accompanying flora.

Once incubation is completed, the colonies are analyzed for pigment formation. *E. coli* absorbs the chromogenic agent 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide (X-β-D-glucuronide), and the intracellular glucuronidase enzyme activity breaks the bond between the chromophore X and the glucuronide. The released chromophore is coloured and, being insoluble, builds up in the cells, causing the *E. coli* colonies to be blue-green coloured.

The standard ISO 16649 specifies a horizontal method for the enumeration of β-glucuronidase positive *E. coli* in products intended for human consumption or for the feeding of animals. It uses a colony-count technique at 37 and 44 °C on a solid medium containing a chromogenic ingredient for the enzyme β-glucuronidase. Inoculate and incubate at a temperature of 37 and 44 °C for 18-20 hours. **Please note:** The high temperature (44 °C) inhibits the growth of *E. coli* strain O157:H7, which is β-glucuronidase negative and therefore forms colourless colonies.

*Escherichia coli* (originally *Bacterium coli commune*) are Gram negative, bacillary, facultative anaerobic bacteria belonging to the enterobacteriaceae family. The coliform bacteria group was named after them. They can be found in the physiological intestinal flora of warm-blooded animals. Because they are facultative pathogenic bacteria, they cause infection in other organs such as the urinary passage or lungs. Some strains are even intestinally pathogenous. *E.coli* bacteria are typical faecal contamination in drinking water and are regarded as the main organism for these tests.

### MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained from type cultures after incubation at a temperature of 37 °C and 44 °C and observed after 18-24 hours.

Microorganisms	Growth (37 °C)	Growth (44 °C)	Colony Colour
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (Figure) *	Good	Good	Blue - Green
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Inhibited	Inhibited	(Colourless)
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Inhibited	Inhibited	(Colourless)
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 19433	Inhibited	Inhibited	-

\* As other strains of *E. coli*. Other Coliforms like *Citrobacter* or *Enterobacter* grow in small, healthy, but colourless colonies.

Acc. to: International Standard ISO 16649-2:2001 Microbiology of food animal feeding stuffs.  
Horizontal method for the enumeration of presumptive *Escherichia coli*

### TBX CHROMOGENIC AGAR

100 g  
500 g

CL47.2  
CL47.1

### Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe  
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

sse 07/2021

