

TBX-Chromogen-Nährboden

(Tryptone Bile X-Gluc Agar)

Art.-Nr. CM 945

Zum Nachweis und zur Koloniezahlbestimmung von *Escherichia coli* aus Lebensmitteln. Der Nährboden entspricht den Empfehlungen der ISO 16649-1¹ und ISO 16649-2².

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Caseinpepton	20,0
Gallensalze Nr. 3	1,5
5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Glucuronid (X-Glucuronid)	0,075
Agar	15,0
pH 7,2 \pm 0,2	

Zubereitung

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).

Beschreibung

TBX-Chromogen-Nährboden basiert auf der Zusammensetzung des OXOID Caseinpepton-Galle-Agars (Art.-Nr. CM 595). Caseinpepton-Galle-Agar wurde ursprünglich entwickelt, um *E. coli* besonders aus gefrorenen Lebensmitteln³ sowie schwach Lactose-positive Stämme schneller und zuverlässiger nachweisen zu können.

Die meisten *E. coli*-Stämme können anhand des Enzyms β -D-Glucuronidase von anderen coliformen Keimen differenziert werden. Das im TBX-Chromogen-Nährboden enthaltene 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Glucuronid (X-Glucuronid) wird durch Glucuronidase gespalten. *E. coli* kann X-Glucuronid als intaktes Molekül in die Zelle aufnehmen. Intrazellulär wird X-Glucuronid durch β -D-Glucuronidase in das Chromophor und Glucuronid gespalten. Diese β -D-Glucuronidase wird auch bei der Spaltung von MUG nachgewiesen⁴ und hat sich als hochspezifisch für *E. coli* erwiesen⁵.

Im Unterschied zu MUG, bei dem das Fluorophor aus der Zelle in den Nährboden gelangt, ist beim TBX-Chromogen-Nährboden das enzymatisch abgespaltene Chromophor unlöslich und reichert sich in der Bakterienzelle an. Die hierdurch blaugrün gefärbten Kolonien können auch bei vorhandener Begleitflora leicht identifiziert werden. Etwa 96 – 98 % aller *E. coli*-Stämme sind β -D-Glucuronidase-positiv⁶.

(Wichtiger Hinweis: *E. coli* O157 ist β -D-Glucuronidase-negativ!).

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.

Nährböden

Kulturverfahren

1. TBX-Chromogen-Nährboden zubereiten und Oberfläche trocknen.
2. Untersuchungsmaterial 1:5 oder 1:10 z.B. in 0,1%igem (w/v), sterilem Peptonwasser (OXOID, Art.-Nr. CM 9) verdünnen und in einem Stomacher oder Labormixer homogenisieren.
3. Homogenisat (z.B. 0,5 ml) auf den Nährboden pipettieren und mit einem sterilen Spatel auf der Oberfläche ausstreichen.
4. 4 Stunden bei 30°C, anschließend 18 Stunden bei 44°C bebrüten.
5. Die Zahl der blaugrün gefärbten Kolonien mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren und das Ergebnis als Anzahl *E. coli* je Gramm Lebensmittel ausdrücken.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10 – 25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett

Qualitätskontrolle

Escherichia coli ATCC 25922

Klebsiella pneumoniae ATCC 11228

Literatur

1. ISO 16649-1 (2001). Horizontal Method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 1: Colony count technique at 44°C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide.
2. ISO 16649-2 (2001). Horizontal Method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 1: Colony count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide.
3. Anderson, J.M. and Baird-Parker, A.C. (1975) *J. Appl. Bact.* 39, 111-117.
4. Feng, P.C.S. and Hartmann, P.A. (1982) *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 1320-1329.
5. Hansen, W. and Yourassowsky, E. (1984) *J. Clin. Microbiol.* 20, 1177-1179.
6. Ratnam, S., March, S. B., Almed, R., Bezanson, G. S. and Kasatiya, S. (1988) *J. Clin. Microbiol.* 26, 2006-2012.