



Referencia : 01-619

Scharlau Microbiology - Ficha de Datos Técnicos

Producto

Agar Glucuronico de Triptona y Bilis (Agar TBX)

Especificación

Medio sólido, selectivo y diferencial para la detección y enumeración de *Escherichia coli* b-glucuronidasa-positivas, de acuerdo con las normas ISO 16649-1 y -2.

Fórmula * en g/L

Triptona.....	20,000
Sales biliares N.º 3.....	1,500
X-b-D-glucurónido.....	0,075
Agar.....	15,000

pH final a 25°C, 7,2 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Suspender 36.5 g del polvo en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición hasta disolución total. Distribuir en recipientes adecuados y esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C.

Descripción

Escherichia coli es la única bacteria coliforme que posee b-D-glucuronidasa y esta característica se aprovecha para diferenciarla de los otros coliformes. Sin embargo debe tenerse en cuenta que un 3-4% de cepas de la población total de *E. coli* son b-glucuronidasa-negativas y por lo tanto no pueden ser reconocidas por esta característica.

E. coli absorbe el sustrato cromogénico (X-b-D-glucurónido) y el enzima b-D-glucuronidasa rompe el enlace entre el b-D-glucurónido y la fracción-X, liberando el cromóforo (X = 5-bromo-4-cloro-3-indolil) que se manifiesta coloreando la colonia de un color azul-verdoso.

El alto contenido de sales biliares impide el crecimiento de las bacterias Gram positivas acompañantes, mientras que la elevada temperatura de incubación inhibe casi totalmente el crecimiento de bacterias Gram negativas distintas a *E. coli*.

Técnica

1. Inóculo directo en masa

Transferir asépticamente 1 mL de la muestra a dos placas Petri y repetir el proceso para cada dilución de la muestra, siempre por duplicado. A cada una de las placas así inoculadas se añaden asépticamente 15 mL de Agar TBX fundido y enfriado a 44-47°C. Se mezcla cuidadosamente el inóculo con el medio y se deja solidificar. El tiempo transcurrido entre la distribución del inóculo y la adición del medio no debe ser superior a los 15 minutos.

Las placas se invierten y se incuban a 44°C durante 18-24 horas. Si se sospecha la presencia de células estresadas, se recomienda hacer una incubación inicial de 4 horas a 37°C y luego pasar ya a 44°C de forma que el tiempo total de incubación no exceda 24 horas. La temperatura de incubación no debe superar nunca los 45°C.

2. Inóculo sobre membrana

Para esta técnica se recomiendan membranas filtrantes estériles de acetato de celulosa o de mezcla de ésteres de celulosa, de 85 mm de diámetro y de 0.45-1.2 µm de tamaño de poro.

2.1. Revitalización

De forma aséptica se disponen 2 membranas sobre sendas placas de Agar Mineral-Modificado Glutamato (Ref. 01-571) evitando atrapar burbujas de aire entre membrana y medio. Depositar 1 mL de muestra en el centro de la membrana y esparcirlo por toda la superficie de la membrana. Repetir la operación para todas y cada una de las diluciones de la muestra a examinar. Mantener las placas inoculadas a temperatura ambiente durante unos 15 minutos o hasta que todo el inóculo haya sido absorbido por el medio. Las placas se incuban sin invertir a 37°C durante 4 ± 1 horas.

2.2. Paso al medio selectivo

Después del periodo de revitalización, se transfieren de forma aséptica las membranas desde el medio de revitalización hasta el Agar TBX, evitando en lo posible atrapar burbujas de aire entre la membrana y el medio. En ningún caso debe tocarse la superficie de la membrana. Las placas así preparadas se incuban, sin invertir, durante 18-24 horas a 44°C, sin que la temperatura exceda nunca los 45°C.

3. Resultados

Las células de *E. coli* b-glucuronidasa-positivas producen colonias de color verde-azulado (o azul-verdoso), sin embargo debe tenerse en cuenta que un 3-4% de la población total de *E. coli* está constituida por células b-glucuronidasa-negativas que producen colonias incoloras. A veces y a pesar de los pasos de revitalización, algunas células dañadas de *E. coli* no consiguen crecer a 44°C y no son detectadas.

Control de calidad

Temperatura de incubación: 35 / 44°C / ±1,0

Tiempo de incubación : 4--24 h

Inóculo: 10-100 UFC (Productividad) // 1.000-10.000 UFC (Selectividad). Método de membrana filtrante o método de recuento en placa con siembra en espiral

Microorganismo

C. freundii ATCC 43864

Enterococcus faecalis ATCC 19433

Escherichia coli ATCC 25922

Escherichia coli ATCC 11775

Salmonella typhimurium ATCC 14028

Salmonella abony NCTC 6017

Crecimiento

Productividad > 0.50

Inhibición parcial

Productividad > 0.50

Productividad > 0.50

Productividad > 0.50

Productividad > 0.50

Observaciones

Colonias incoloras

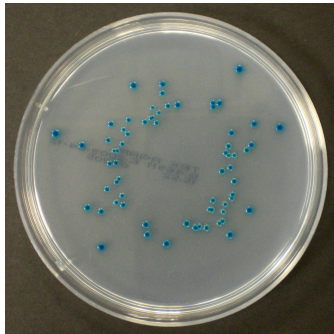
Selectividad

Colonias verde oscuro

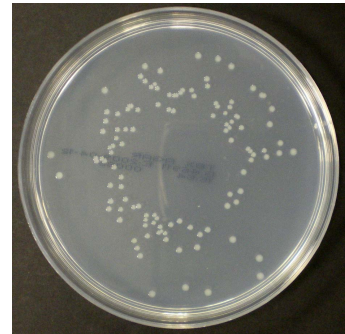
Colonias verde oscuro

Colonias incoloras

Colonias incoloras



Escherichia coli ATCC 25922



Salmonella abony NCTC 6017

Bibliografía

- DELISLE, G.L. & A. LEY (1989) Rapid detection of *E. coli* in urine samples by a new chromogenic b-glucuronidase assay. J. Clin. Microbiol. 27:778-779.
- ISO Standard 16649 (2001) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of b-glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 1: Colony-count technique at 44°C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-b-D-glucuronide. Part 2: Colony-count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-b-D-glucuronide.
- OGDEN, I.D. & A.J. WATT (1991) An evaluation of fluorogenic and chromogenic assays for the direct enumeration of *E. coli*. Letters in Appl. Microbiol. 13:212-215.
- SCHWEIZERISCHES LEBENSMITTELBUCH (2005) Kap.56 Mikrobiologie, Bundesamt für Gesundheit. Direktionsbereich Verbraucherschutz. Bern.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco (entre 4°C y 30°C, con humedad relativa menor del 60%).

Disponibilidad