Référence: FLWR3093 **A.B.E. - Fiche technique**

Produit: **Gélose TBX**

Principe

Milieu solide sélectif et différentiel pour la détection et le dénombrement de Escherichia coli β-glucuronidase positive selon les normes ISO.

Présentation

	Détails de l'emballage	Durée de vie	Conservation
10 Bouteille préparée Flacon 250 ml avec: 200 ± 5 ml	1 boîte de 10 flacons de 250 ml. Bouchon injectable: Bouchon intérieur à vis en plastique. L'utilisation d'aiguilles pour seringues d'un diamètre supérieur à 0,8 mm n'est pas recommandée.	12 mois	2-25 ºC

Formule * en g/L

Composition (g/l):

Tryptone	20.000
Sels biliaires n° 3	1.500
Agar	15.000
5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-β-D-glucuronide	0.075

Description

Description :

Escherichia coli est le seul coliforme qui possède la ß-D-glucuronidase et peut être facilement différencié des autres coliformes qui ne présentent pas cette activité enzymatique. Il existe certaines souches de E. coli (moins de 3–4 % de la population totale) qui sont négatives pour la ß-D-glucuronidase.

E. coli absorbe le substrat chromogène (X-ß-D-glucuronide) et l'enzyme bactérienne ß-D-glucuronidase scinde la liaison entre la fraction chromophore X et le ß-D-glucuronide.

La fraction X libre colore les cellules de E. coli et produit une colonie bleu-vert.

La forte teneur en sels biliaires du milieu inhibe la croissance des bactéries Gram positives accompagnantes et la température d'incubation élevée (44 ºC) inhibe les bactéries Gram négatives autres que E. coli.

Mode d'emploi :

Faire fondre le tube (100 ºC), verser dans la boîte et procéder selon les spécifications internes.

1. Inoculation directe (technique en masse)

Transférer 1 mL d'échantillon à tester dans une boîte de Petri stérile de manière aseptique, et répéter la procédure avec des dilutions supplémentaires. Ensemencer deux boîtes par dilution. Verser 15 mL de TBX Agar fondu et refroidi (44–47 ºC) dans chaque boîte de Petri. Mélanger soigneusement et laisser le mélange se solidifier. Le temps entre la distribution de l'inoculum et le coulage du milieu ne doit pas dépasser 15 minutes.

Retourner les boîtes ensemencées et les incuber à 44 ± 1 ºC pendant 20–24 heures. Si la présence de cellules stressées est suspectée, incuber pendant une période initiale de 4 h ± 0,25 à 37 ± 1 ºC puis augmenter la température d'incubation à 44 ºC. Le temps total d'incubation ne doit pas dépasser 24 heures et la température d'incubation ne doit pas dépasser 45 ºC.

2. Incubation sur membrane (technique de résuscitation)

Aucune membrane spécifique n'est recommandée. Toute membrane stérile et non inhibitrice en acétate de cellulose ou en esters mixtes de cellulose, avec une taille de pores de 0,45 µm à 1,2 µm et un diamètre de 85 mm peut être utilisée.

2.1. Résuscitation

Placer aseptiquement une membrane sur la surface sèche de chacune des deux boîtes de Mineral-Modified-Glutamate Agar (MMGA), en prenant soin d'éviter l'emprisonnement de bulles d'air. Ajouter 1 mL de l'échantillon à tester au centre de chaque membrane et répartir l'inoculum uniformément sur toute la surface de la membrane. Répéter la procédure pour chaque dilution de l'échantillon.

Laisser les boîtes ensemencées à température ambiante pendant 15 minutes jusqu'à ce que l'inoculum ait pénétré dans l'agar. Incuber les boîtes à 37 ± 1 ºC pendant 4 ± 0,25 heures.

2.2. Transfert vers le milieu sélectif

Après la période de résuscitation, transférer les membranes du milieu de résuscitation vers les boîtes de TBX Agar à l'aide de pinces stériles, en prenant soin d'éviter l'emprisonnement de bulles d'air sous la membrane. Ne pas toucher ni perturber la surface de la membrane. Incuber les boîtes pendant 20–24 heures à 44 ºC (et pas plus de 45 ºC).

3. Résultats

Escherichia coli positif pour la ß-D-glucuronidase produit des colonies bleues (bleu-vert). Certaines souches (3–4 % de la population totale) de E. coli ne possèdent pas l'enzyme glucuronidase et produisent des colonies incolores. Certaines cellules stressées de E. coli

Contrôle qualité

Contrôle physico-chimique

Couleur : Jaune paille pH: 7.2 ± 0.2 at 25ºC

Contrôle microbiologique

Plateaux de fusion - coulage - ensemencement / Plage pratique 100 ± 20 UFC. min. 50 UFC (productivité) / 10^4-10^6 UFC (sélectivité)

Contrôle microbiologique selon ISO 11133: 2014 / A1: 2018.

Méthodologie analytique selon ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiose. Incuber à 44ºC ± 1 ºC pendant 20 - 24 h

Micro organismes	Croissance
Escherichia coli ATCC® 25922, WDCM 00013	
Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012	
Escherichia coli NCTC® 13216, WDCM 00202	
Enterococcus faecalis ATCC® 19433, WDCM 00009	Inhibé
Citrobacter freundii ATCC® 43864, WDCM 00006 (37-44ºC)	

Contrôle de la stérilité

Incubation 48 h à 30-35 ºC et 48 h à 20-25 ºC: PAS DE CROISSANCE.
Vérifier 7 jours après l'incubation dans les mêmes conditions.

Références

· DELISLE, G.L. & A. LEY (1989) Rapid detection of E. coli in urine samples by a new chromogenic ß-glucuronidase assay. J. Clin. Microbiol. 27:778-779

· ISO Standard 16649-1:2018. Microbiology of foods chain- Horizontal method for the enumeration of ß-glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 1: Colony count technique at 44ºC using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl ß-D-glucoride.
ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.

· 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.