



## Easy Dry™ TBX

Chromogenic medium for detection and enumeration of *E. coli*, according to ISO 16649-1.

### DESCRIPTION

Liofilchem Easy Dry™ are absorbent pads impregnated with a sterile, dehydrated culture medium. Each pad is preplated in a Petri dish and is immediately ready to use after pouring sterile distilled or deionized water on it. Easy Dry™ are optimal for the examination of large sample volumes by the membrane filter method.

Easy Dry™ TBX is a chromogenic selective medium used for the isolation, identification and enumeration of  $\beta$ -glucuronidase-positive *Escherichia coli* in foodstuffs, animal feed and water.

This medium complies with the recommendations of ISO 16649-1.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Enzymatic Digest of Casein	20.0
Bile Salts No. 3	1.5
X-Glucuronide	0.075
Final pH 7.2 $\pm$ 0.2 at 25°C	

### METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of casein provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Bile salts act as selective agent inhibiting most Gram-positive bacteria. 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide (BCIG) is the chromogenic substrate cleaved by the enzyme  $\beta$ -glucuronidase of *E. coli*.

### PREPARATION

1. Cut open a bag and remove the number of Easy Dry™ plates needed.
2. Moisten the pad contained in the Petri dish with 2.2 ml of sterile distilled or deionized water.
3. Wait 5 minutes before using.

### TEST PROCEDURE

For the recovery of sub-lethally injured *E. coli*, a resuscitation step is recommended by ISO 16649-1:

Place a membrane filter onto the dried surface of a plate of Mineral-Modified Glutamate Agar (MMGA). Spread 1 ml of the test sample evenly over the whole membrane surface and incubate at 37°C for 4  $\pm$  1 h. Under the same conditions, using decimal dilutions of the test sample or of the initial suspension, two plates per dilution are inoculated.

After resuscitation, transfer the membrane from MMGA to a plate containing a just rehydrated pad of Easy Dry™ TBX. Incubate aerobically at 44°C for further 18-24 h.

### INTERPRETING RESULTS

After incubation observe the color of the colonies and interpret the results as indicated in the ID table.

#### ID Table.

Microorganism	Typical colony color
$\beta$ -glucuronidase-positive <i>Escherichia coli</i>	Blue to blue-green
$\beta$ -glucuronidase-negative bacteria (if not inhibited)	White to green-beige

Count the typical colony-forming units (CFU) of  $\beta$ -glucuronidase-positive *Escherichia coli* in each plate containing less than 150 typical CFU and less than 300 total (typical and non-typical) CFU.

Note:  $\beta$ -glucuronidase-negative *E. coli* strains form colorless colonies on this medium, e.g. *E. coli* O157, or they cannot grow at elevated temperature of 44°C, e.g. *E. coli* O157:H7.

Typical reactions for confirmation of *E. coli* are a positive indole-reaction as well as a negative oxidase- and catalase-reaction.

### APPEARANCE OF THE MEDIUM

Whitish pad. Yellowish once rehydrated.

**STORAGE**

Store at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

**SHELF LIFE**

2 years.

**QUALITY CONTROL**

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 50-100 CFU.

Inoculum for selectivity: 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU.

Incubation conditions: aerobically at 44 ± 1°C for 18-24 hours.

**QC Table.**

Microorganism		Growth	Specification
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Good	Blue to blue-green colonies
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00202	Good	Blue to blue-green colonies
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Inhibited	---
<i>Citrobacter freundii</i>	WDCM 00006	Good	White to green-beige colonies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	Good	White to green-beige colonies

**WARNING AND PRECAUTIONS**

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

**DISPOSAL OF WASTE**

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.









**BIBLIOGRAPHY**

1. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 16649:2001. 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°C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide.
4. Ogden I.D., and A.J. Watt (1991) An evaluation of fluorogenic and chromogenic assays for the direct enumeration of *E. coli*. Letters in App. Microbiol. 13:212-215.
3. Delisle G.L., and A. Ley (1989) Rapid detection of *E. coli* in urine samples by a new chromogenic  $\beta$ -Dglucuronidase assay. J. Clin. Microbiol. 27:778-779.

**PRESENTATION**

PRESENTATION		Contents	Ref.
Easy Dry™ TBX	60 mm ready-to-use plates	100 plates	87503

**TABLE OF SYMBOLS**

<b>LOT</b> Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
<b>REF</b> Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net



## Easy Dry™ TBX

Medio cromogénico para la detección y el conteo de *E. coli*, según la ISO 16649-1.

### DESCRIPCIÓN

Liofilchem Easy Dry™ on discos absorbentes impregnados con un medio de cultivo deshidratado estéril. Cada disco se presenta dentro de una placa Petri y está listo para su uso inmediato después de añadirle agua destilada o desionizada. Los Easy Dry™ están indicados para el análisis de volúmenes elevados de muestras a través del método de filtración de membrana.

Easy Dry™ TBX es un medio cromogénico utilizado para el aislamiento, identificación y conteo de *Escherichia coli* β-glucuronidasa-positivas en alimentos para uso humano, animal y aguas.

Este medio sigue las recomendaciones de la ISO 16649-1

FÓRMULA	(g/l)
Digerido Enzimático de Caseína	20.0
Sales Biliares No. 3	1.5
X-Glucuronide	0.075
pH Final 7.2 ± 0.2 a 25°C	

### PRINCIPIO DEL MÉTODO

El digerido enzimático de caseína proporciona aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de los organismos. Las sales biliares actúan como agente selectivo para la mayoría de bacterias Gram-positivas. El 5-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-glucuronide (BCIG) es un sustrato cromogénico que se une a la enzima β-glucuronidasa de *E. coli*.

### PREPARACIÓN

1. Abrir una bolsa y retirar el número de placas Easy Dry requeridas.
2. Hidratar el disco presente dentro de la placa Petri con 2.2 ml de agua estéril o desionizada.
3. Esperar 5 minutos antes de utilizarlo.

### PROCEDIMIENTO DEL TEST

Para la recuperación de *E. coli* subletales dañadas, la ISO 16649-1 recomienda un paso de recuperación.

Posicionar una membrana filtrante en la superficie seca de una placa de Mineral-Modified Glutamate Agar (MMGA). Extender 1 ml de la muestra sobre toda la superficie de la membrana e incubar a 37°C durante 4 ± 1 h.

Bajo las mismas condiciones, usar diluciones decimales de la muestra a analizar o de la suspensión inicial, se inoculan dos placas por dilución.

Después del paso de recuperación, transferir la membrana del medio MMGA a una placa que contenga el disco de Easy Dry™ TBX recién rehidratado. Incubar en condiciones de aerobiosis a 44°C durante 18-24 h más.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Después del periodo de incubación observar el color de las colonias e interpretar los resultados siguiendo la tabla de identificación:

#### Tabla de Identificación.

Microorganismo	Apariencia
<i>Escherichia coli</i> β-glucuronidasa-positiva	colonias azules – azul verdoso
Bacteria β-glucuronidasa-negativa (si no está inhibida)	Colonias blancas – verde/beige

Contar las unidades formadoras de colonias típicas (CFU) de *Escherichia coli* β-glucuronidasa-positivas en cada placa que contenga un número inferior a 150 CFU típicas e inferior a 300 CFU totales (típicas y atípicas).

Nota: las cepas de *E. coli* β-glucuronidasa-negativas forman colonias incoloras en este medio, por ejemplo *E. coli* O157, o no pueden crecer a temperatura elevada de 44°C, por ejemplo *E. coli* O157:H7.

Las reacciones frecuentes para la confirmación de *E. coli* son una reacción del indol positiva, oxidasa negativa y catalasa negativa.

**APARIENCIA DEL MEDIO**

Disco de color blanco. Amarillento después de su rehidratación.

**ALMACENAMIENTO**

Almacenar a 10-25°C lejos del alcance de la luz. No utilizar el producto fuera de la fecha de caducidad descrita en la etiqueta o si el producto presenta alguna muestra de deterioro o contaminación.

**VIDA ÚTIL**

2 años.

**CONTROL DE CALIDAD**

Las placas se inoculan con las cepas indicadas en la siguiente tabla.

Inóculo para productividad: 50-100 CFU.

Inóculo para selectividad: 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU.

Condiciones de incubación: aeróbicas a 44 ± 1°C durante 18-24 horas.

**Tabla QC**

Microorganismo		Crecimiento	Detalles
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Bueno	Colonias azules – azul verdoso
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00202	Bueno	Colonias azules – azul verdoso
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009	Inhibición	---
<i>Citrobacter freundii</i>	WDCM 00006	Bueno	Colonias blancas – verde/beige
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	WDCM 00025	Bueno	Colonias blancas – verde/beige

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

Este producto no contiene sustancias peligrosas en concentraciones que excedan los límites fijados por la legislación actual y no está clasificado como peligroso. Se recomienda de todas formas la lectura de la hoja de seguridad para el uso apropiado. El producto está pensado para un uso exclusivo profesional y debe ser utilizado sólo por operadores debidamente adiestrados.

**DESECHO DE RESÍDUOS**

El desecho de los residuos debe realizarse según la regulación nacional y local vigente.









**BIBLIOGRAFÍA**

1. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 16649:2001. 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°C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-glucuronide.
4. Ogden I.D., and A.J. Watt (1991) An evaluation of fluorogenic and chromogenic assays for the direct enumeration of *E. coli*. Letters in App. Microbiol. 13:212-215.
3. Delisle G.L., and A. Ley (1989) Rapid detection of *E. coli* in urine samples by a new chromogenic  $\beta$ -Dglucuronidase assay. J. Clin. Microbiol. 27:778-779.

**PRESENTACIÓN**

		Contenido	Ref.
Easy Dry™ TBX	Placas listas para su uso de 60 mm	100 placas	87503

**TABLA DE SÍMBOLOS**

<b>LOT</b> Código de lote	 Mantener fuera del alcance de la luz	 Fabricante	 Utilizar antes de	 Frágil, manipular con cuidado
<b>REF</b> Número de catálogo	 Límites de temperatura	 Contenido suficiente para <n> análisis	 Atención, consultar el documento adjunto	 No reutilizar



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net