



Bismuth Sulphite Agar

Selective medium for detection of *Salmonella* spp in food and other materials, according to ISO 6579.

DESCRIPTION

Bismuth Sulphite Agar is a medium used for the selective isolation of *Salmonella* spp, especially *S. Typhi*, from food, animal feedstuffs and environmental samples.

This medium complies with the recommendations of ISO 65791-1 and conforms to FDA/BAM formulation.

TYPICAL FORMULA*

	(g/litre)
Enzymatic Digest of Animal Tissues	10.0
Meat Extract	5.0
Dextrose	5.0
Disodium Hydrogen Phosphate, anhydrous	4.0
Ferrous Sulfate, anhydrous	0.3
Bismuth Sulphite	8.0
Brilliant Green	0.025
Agar	20.0

Final pH 7.7 ± 0.2 at 25°C

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of animal tissues and meat extract provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Dextrose is the fermentable carbohydrate. Disodium phosphate is the buffering agent. Ferrous sulfate is an indicator of hydrogen sulfide production. Bismuth sulfite and brilliant green are selective agents effective against both Gram-positive and Gram-negative organisms other than *Salmonella* spp and some *Shigella* spp. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

Dehydrated medium Suspend 52 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. DO NOT AUTOCLAVE. Cool to 45-50°C before pouring into Petri plates.

Note: Prepare plates on day before streaking and store in dark. Selectivity decreases in 48 h.

TEST PROCEDURE

Refer to appropriate references for the complete procedure.

According to ISO 6579-1, the detection of *Salmonella* requires 4 successive stages:

1. Pre-enrichment

Buffered Peptone Water (ref. 24099) is used to prepare the initial sample suspension. A test portion of 25 g is mixed with 225 ml of BPW. Incubate at 34-38°C for 18 hours.

2. Selective enrichment

Inoculate Rappaport Vassiliadis Soy Broth (ref. 24400) or MSRV Agar (ref. 26478) and Muller-Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Broth (ref. 20072) with the pre-enrichment culture. Incubate either the RVS broth or the MSRV agar at 41.5°C for 24 hours whereas the MKTTn broth is incubated at 37°C for 24 hours.

3. Isolation

From the selective enriched cultures inoculate the surface of an XLD plate (ref. 10056) to obtain well-isolated colonies. Proceed in the same way with the second selective plating-out medium such as Bismuth Sulphite Agar. Incubate aerobically at 37°C for 24-48 hours.

4. Confirmation

The combination of biochemical and serological test results indicate whether an isolate belongs to the genus *Salmonella*.

Note: Bismuth Sulphite Agar should be incubated for a total of 48 hours to allow growth of all typhoid strains.

INTERPRETING RESULTS

On Bismuth Sulphite Agar, typical *S. Typhi* colonies are black surrounded by a black or brownish-black zone which may be several times the size of the colony. By reflected light, preferably daylight, this zone exhibits a distinctly characteristic metallic sheen. Other strains of *Salmonella* produce black to green colonies with little or no darkening of surrounding medium. Most *Shigella* spp are usually inhibited; however, strains of *S. flexneri* and *S. sonnei* may grow on this medium producing brown to green, raised colonies with depressed centers (crater-like appearance).

Note: It is important to streak for well-isolated colonies. In heavy growth areas, *S. Typhi* appears light green and may be misinterpreted as negative growth for *S. Typhi*.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store prepared plates at 2-8°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

Dehydrated medium: 1 year.

90 mm ready-to-use plates: 3 months.

QUALITY CONTROL

Appearance of Dehydrated Medium: Free-flowing, homogeneous, light beige to light green.

Appearance of Prepared Medium: Opaque, may have a flocculent precipitate, light gray-green to medium green.

Expected Cultural Response:

Control strain	Inoculum	Incubation	Specification
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	10 ³ -10 ⁴ CFU	2x(24 ± 3 h)/ 37 ± 1°C
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030		
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012		Growth or partial inhibition, dull green or brown colonies without metallic sheen
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009		Total inhibition

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

WARNING AND PRECAUTIONS

For professional use only. Operators must be trained and have certain experience in the laboratory methods. Please read the instructions carefully before using this product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.

Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.

DISPOSAL OF WASTE

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

BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

The product is available in the various configurations listed on the next page. There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit liofilchem.com

Product	Format	Packaging	Ref.
Bismuth Sulphite Agar ISO 6579	Plate 90 mm	20 plates	10446
Bismuth Sulphite Agar ISO 6579	Dehydrated media	500 g	610387
Bismuth Sulphite Agar ISO 6579	Dehydrated media	100 g	620387

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

liofilchem.com/ifu-sds



Bismuth Sulphite Agar

Terreno selettivo per la ricerca di *Salmonella* spp negli alimenti ed altri materiali, secondo ISO 6579.

Istruzioni per l'uso

ITALIANO

DESCRIZIONE

Bismuth Sulphite Agar è un terreno utilizzato per l'isolamento selettivo di *Salmonella* spp, in particolare *S. Typhi*, da alimenti, mangimi e campioni ambientali

Questo terreno è conforme alle raccomandazioni ISO 6579-1 e FDA/BAM.

FORMULA TIPICA*

	(g/litro)
Digerito Enzimatico di Tessuti Animali	10.0
Estratto di Carne	5.0
Destrosio	5.0
Disodio Idrogeno Fosfato, anidro	4.0
Solfato Ferroso, anidro	0.3
Bismuto Solfito	8.0
Verde Brillante	0.025
Agar	20.0

pH Finale 7.7 ± 0.2 a 25°C

*Adattata e/o integrata con supplementi per soddisfare le specifiche di performance richieste

PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito enzimatico di tessuti animali e l'estratto di carne forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. Il destrosio è il carboidrato fermentabile. Il disodio fosfato è l'agente tamponante. Il solfato ferroso è un indicatore della produzione di idrogeno solforato. Bismuto solfito e verde brillante sono agenti selettivi efficaci contro microrganismi Gram positivi ma anche Gram negativi ad eccezione di *Salmonella* spp ed alcune specie di *Shigella*. L'agar è l'agente solidificante.

PREPARAZIONE

Terreno disidratato Sospendere 52 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. NON AUTOCLAVARE. Raffreddare a 45-50°C prima di versare in piastre Petri.

Nota: Preparare le piastre il giorno prima dell'utilizzo e conservare al buio. La selettività diminuisce in 48 ore.

PROCEDURA DEL TEST

Per la procedura completa consultare riferimenti bibliografici appropriati.

Secondo ISO 6579-1, la ricerca di *Salmonella* richiede 4 passaggi successivi:

1. Pre-arricchimento

Utilizzare Buffered Peptone Water (ref. 24099) per preparare la sospensione iniziale del campione. Miscelare una porzione di 25 g del test con BPW. Incubare a 34-38°C per 18 ore.

2. Arricchimento selettivo

Inoculare Rappaport Vassiliadis Soy Broth (ref. 24400) o MSR/V Agar (ref. 26478) e Muller-Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Broth (ref. 20072) con la coltura di pre-arricchimento. Incubare RSV broth o MSR/V agar a 41.5°C per 24 ore mentre MKTTn broth va incubato a 37°C per 24 ore.

3. Isolamento

Prelevare dalle colture di arricchimento selettivo per inoculare la superficie di una piastra XLD (ref. 10056) al fine di ottenere colonie ben isolate. Procedere nello stesso modo con il secondo terreno selettivo come ad esempio Bismuth Sulphite Agar. Incubare in atmosfera aerobica a 37°C per 24-48 ore.

4. Conferma

La combinazione dei risultati dei test biochimici e sierologici indica se un isolato appartiene al genere *Salmonella*.

Nota: Bismuth Sulphite Agar dovrebbe essere incubato per un totale di 48 ore per permettere al crescita di tutti i ceppi tifoïdi.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Su Bismuth Sulphite Agar, le colonie tipiche di *S. Typhi* sono nere circondate da un alone nero o brunastro-nero il quale può essere diverse volte più grande della colonia stessa. Questa zona osservata con luce riflessa, preferibilmente alla luce del giorno, mostra un riflesso metallico caratteristico. Altri ceppi di *Salmonella* producono colonie da nero a verde con un modesto o nessun scurimento del terreno circostante. La maggior parte delle specie di *Shigella* di solito sono inibite; comunque alcuni ceppi di *S. flexneri* e *S. sonnei* possono crescere su questo terreno producendo colone da marrone a verde, rialzate e con un centro incavato (aspetto simile ad un cratere),

Nota: Risulta importante effettuare la semina cercando di ottenere colonie ben isolate. Nelle aree con densità di crescita elevata, *S. Typhi* appare verde chiaro e può non essere interpretata correttamente.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare le piastre pronte a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 1 anno.

Piastre da 90 mm pronte all'uso: 3 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Aspetto del Terreno Disidratato: Omogeneo, fine granulometria, da beige chiaro a verde chiaro.

Aspetto del Terreno Preparato: Da grigio chiaro-verde a verde, opaco, può presentare dei precipitati come flocculi.

Risultati Attesi dei Test Microbiologici:

Ceppo di controllo		Inoculo	Incubazione	Specifiche
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	10 ³ -10 ⁴ UFC	2x(24 ± 3 h)/ 37 ± 1°C.	Crescita buona, colonie marroni, grigie o nere di solito con riflesso metallico dopo 24 ore diventando uniformemente nere dopo 48 ore
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030			
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012			
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00009			Inibizione totale

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Esclusivamente per uso professionale. Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza nei metodi di laboratorio. Si prega di legger attentamente le istruzioni prima di utilizzare questo prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita se ci sono deviazioni dalle istruzioni riportate in questo documento.

Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle modalità di manipolazione sicure.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

BIBLIOGRAFIA

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

Il prodotto è disponibile in diverse configurazioni. Vedere l'elenco nella lingua inglese.











Questo documento IFU e la SDS sono disponibile dal Support Center online:

liofilchem.com/ifu-sds

References

1. ISO 11133:2014+Amd1:2018. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
3. U.S. Food and Drug Administration. *Bacteriological Analytical Manual*. AOAC, Arlington, VA. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>.
4. Isenberg, H. D. (ed.) (1992) *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Vanderzant, C., and D.F. Splittstoesser (eds.) (1992) *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Wilson, W. J., and E. M. Blair (1931) Further experience of the bismuth sulphite media in the isolation of *B. typhosus* and *B. proteus*. *J. Hyg.* 31:138-161.
7. Wilson, W. J., and E. M. Blair (1927) Use of a glucose bismuth sulphite iron medium for the isolation of *B. typhosus* and *B. proteus*. *J. Hyg.* 26:374-391.
8. Wilson, W. J., and E. M. Blair (1926) A combination of bismuth and sodium sulphite affording an enrichment and selective medium for the typhoid-paratyphoid groups of bacteria. *J. Pathol. Bacteriol.* 29:310.

Table of Symbols

	Batch code
	Catalogue number
	Manufacturer
	Use by
	Fragile, handle with care
	Temperature limitation
	Contains sufficient for <n> tests
	Consult instructions for use
	Do not reuse
	Keep away from sunlight



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com