

Membran-Lactose-Glucuronid-Agar (MLGA)

Art.-Nr. CM1031

Ein Nährboden zur Differenzierung und Keimzahlbestimmung von *Escherichia coli* und anderen coliformen Keimen durch Membranfilterverfahren.



Escherichia coli (grün) &
Klebsiella spp. (gelb)

- **Selektiv**

- Vereinfachte Identifizierung**

- Laurylsulfat im Medium inhibiert die grampositive Begleitflora und erleichtert die Identifizierung der Zielorganismen.

- **Sensitiv**

- Schonende Isolierung**

- Traditionelle Methoden zur Differenzierung von *Escherichia coli* basieren auf der Fähigkeit dieser Spezies, bei 44 °C zu wachsen. Hierbei gibt es jedoch einzelne Stämme, die bei diesen Inkubationsbedingungen nicht angezüchtet werden können. Beim Einsatz einer chromogenen Nachweisreaktion kann auf die selektiveren Inkubationsbedingungen verzichtet werden und damit werden auch temperatursensible Stämme detektiert.

- **Spezifisch**

- Bewährtes Nachweisprinzip**

- 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronid (BCIG) und ein Indikator für die Lactoseverwertung ergeben eindeutige und klar abgegrenzte Farbreaktionen zwischen *E. coli*, Coliformen und der Begleitflora.

- **Einfach**

- Keine Doppelansätze**

- E. coli* wird bei gleichen Inkubationsbedingungen wie Coliforme auf einer Platte angezüchtet. Damit entfällt die Notwendigkeit, Platten bei verschiedenen Temperaturen zu inkubieren.

Membran-Lactose-Glucuronid-Agar

Art.-Nr. CM1031

Verwendungszweck

Der Nährboden dient zur Keimzahlbestimmung von *E. coli* und Coliformen mittels Membranfilterverfahren. Er entspricht den Empfehlungen der britischen Umweltbehörde (Environment Agency)¹.

Zusammenfassung

Der Nachweis von Coliformen und *E. coli* gehört zu den wichtigsten mikrobiologischen Routineuntersuchungen im Trinkwasserbereich und liefert Hinweise auf fäkale Kontaminationen, Effektivität von Aufbereitungsmaßnahmen und den hygienischen Status der Verteilernetze.

Testprinzip

Die Mikroorganismen werden mittels Filtration auf einem Membranfilter abgeschieden und dieser auf Membran-Lactose-Glucuronid-Agar übertragen. Das im Medium enthaltene Laurylsulfat inhibiert die grampositive Begleitflora. Die präsumtive Identifizierung von *E. coli* und Coliformen erfolgt über 2 biochemische Reaktionen:

- Lactoseverwertung wird durch den Farbumschlag des Indikatorfarbstoffes Phenolrot nach Gelb angezeigt.
- *E. coli* besitzt das Enzym β -Glucuronidase. Diese spaltet BCIG und ein blau-gefärbtes Chromophor reichert sich in den Zellen an.

Keim	β -Glucuronidase	Lactoseverwertung	Koloniefarbe
<i>E. coli</i>	+	+	Grün
Coliforme	-	+	Gelb
Anderer Organismen	-	-	Farblos/Pink Blau

Typische Zusammensetzung

	(g/l)
Pepton	40,0
Hefeextrakt	6,0
Lactose	30,0
Phenolrot	0,2
Natriumlaurylsulfat	1,0
Natriumpyruvat	0,5
X-Glucuronid (BCIG)	0,2
Agar	10,0

pH 7,4 \pm 0,2

Zubereitung

88 g Membran-Lactose-Glucuronid-Agar in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen vorsichtig erhitzen. Bei 121 °C für 15 Minuten autoklavieren. Nach dem Abkühlen auf 50 °C in sterile Petrischalen abfüllen.

Durchführung

(Ausführliche Methode s. <http://www.environment-agency.gov.uk/commondata/105385/mdwpart4.pdf>)

Wasserprobe durch einen Membranfilter auf Cellulosebasis mit einem Durchmesser von 47mm und einer Porenweite von 0,45 μ m filtrieren.

Hierbei sollte das Untersuchungsvolumen bzw. die Verdünnungsstufe der Probe so gewählt werden, daß die

Keimzahl bei 20-80 KBE/ Membran liegt. Bei vorbehandelten Wasserproben sollten 100 ml filtriert werden.

Anschließend den Membranfilter luftblasenfrei auf den Membran-Lactose-Glucuronid-Agar transferieren und bei 30° C für 4 Stunden und anschließend bei 37° C für weitere 14 Stunden inkubieren. Nach Abschluß der Inkubation sind alle grün oder gelb gefärbten Kolonien innerhalb von 15 Minuten zu zählen, da die Gelbfärbung sich auf dem kälter werdenden Agar abschwächen kann. Die gelb gefärbten Kolonien sind hierbei als (Non-*E. coli*)-Coliforme zu werten wohingegen die grün gefärbten Kolonien präsumtive *E. coli* sind. Addiert ergeben die beiden Werte die Anzahl der Gesamtcoliformen in KBE / Volumen untersuchter Wasserprobe. Weitergehende Bestätigungsreaktionen s. Literatur.

500 g Membran-Lactose-Glucuronid-Agar ergeben 5,7 Liter Medium.

Beschaffenheit

Der Trockennährboden ist ein hell gefärbtes, feinfließendes Pulver.

Der zubereitete Nährboden ist intensiv rot-orange und transparent.

Vorsichtsmaßnahmen

In vitro-Diagnosticum.

Den Nährboden nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden. Bei Verklumpungen, Verfärbungen oder anderen sichtbaren Verfallsanzeichen sollte das Produkt ebenfalls nicht eingesetzt werden.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden: fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–30 °C.

Bei vorschriftsmäßiger Lagerung ist das Produkt bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendbar.

Qualitätskontrolle

Organismus	Culti-Loop® Art.-Nr.	Typische Koloniefarbe
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	C7050L	Grün
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	C7080L	Gelb
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	C7060L	Rosa
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	C1221L	Inhibiert

Literatur

1. The Environment Agency – Methods for Examination of Waters and Associated Material – The Microbiology of Drinking Water 2002, Part 4, Method B: The enumeration of coliforms and *E. coli* by single membrane filtration technique.