

Brilliance™ *Bacillus cereus*

Brilliance™ *Bacillus cereus* Agar-Basis
Art.-Nr. CM1036

Brilliance™ *Bacillus cereus*-Selektiv-Supplement
Art.-Nr. SR0230

Ein chromogener Nährboden zur Isolierung und Keimzahlbestimmung von *Bacillus cereus* aus Lebensmitteln.



Bacillus cereus

• Vereinfachte Identifikation

Das chromogene Substrat 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -Glucopyranosid ermöglicht die eindeutige Differenzierung der Zielorganismen, die als blau-grün gefärbte Kolonien wachsen.

• Selektiv

Durch den Zusatz von Trimethoprim sowie Polymyxin B wird der Nährboden selektiver als traditionelle Nährböden, was eine verbesserte Isolierung von *B. cereus* ermöglicht.

• Sensitiv

Brilliance™ *Bacillus cereus* reduziert die Zahl falsch-negativer Befunde im Vergleich zu klassischen bzw. anderen chromogenen Nährböden¹.

• Grundlagen

Bacillus cereus ist ein grampositives, aerobes sporenbildendes stäbchenförmiges Bakterium. Es ist in der Natur weit verbreitet und kann u.a. aus Boden, Staub, Getreide, tierischen Haaren, Frischwasser und aus Sedimenten isoliert werden. Daher ist es nicht verwunderlich, daß dieser Keim mit fast allen landwirtschaftlichen Erzeugnissen assoziiert ist. In den meisten Rohstoffen für die Lebensmittelindustrie ist *B. cereus* enthalten, wobei die Fähigkeit zur Sporenbildung das Überleben während des Lebensmittelverarbeitungsprozesses sichert. Ein Gehalt an *B. cereus* von $<10^3$ KBE /g Lebensmittel ist normal und wird als unproblematisch angesehen, da die minimale Infektionsdosis $>10^5$ KBE / g Lebensmittel beträgt².

Eine durch *B. cereus* verursachte Gastroenteritis basiert auf der Aufnahme von zwei verschiedenen Toxinen, dem emetischen (Erbrechen verursachenden) Toxin bzw. dem Enterotoxin. Diese werden während der vegetativen Wachstumsphase gebildet, z.B. wenn die Lebensmittel nach dem Kochen nur unzureichend gekühlt werden. Die Krankheitsbilder unterscheiden sich in Abhängigkeit von dem jeweiligen Toxin: Der diarrhoeische Typ wird durch ein Enterotoxin (Protein mit hohem Molekulargewicht) verursacht und tritt gewöhnlich 6-15 Stunden nach Aufnahme des kontaminierten Lebensmittels auf. Der emetische Typ wird vermutlich durch ein hitzestabiles Peptid mit niedrigem Molekulargewicht verursacht, wobei die Symptome bereits ab 0,5-6 Stunden nach Nahrungsaufnahme eintreten können².

Eine Vielzahl von Lebensmitteln einschließlich Fleisch, Milch, Gemüse und Fisch ist mit Lebensmittelvergiftungen des diarrhoeischen Typs assoziiert. Lebensmittelvergiftungen des emetischen Typs kommen vorrangig bei Reisprodukten vor, allerdings auch bei anderen stärkehaltigen Produkten wie Kartoffeln, Pasta und Käse. Lebensmittelzubereitungen wie Saucen, Puddings, Suppen, Kasserollen, Gebäck und Salate sind häufig Ursache für Lebensmittelvergiftungen³.

Brilliance™ *Bacillus cereus*

Art.-Nr. CM1036 + SR0230

Verwendungszweck

Brilliance™ *Bacillus cereus* dient zum Nachweis und zur Keimzahlbestimmung von *B. cereus* aus Lebensmitteln und ähnlichen Proben.

Zusammenfassung

Um *B. cereus* als Ursache von einem Lebensmittel-assoziiertem Ausbruch bestätigen zu können, wird der Nachweis desselben Stammes aus dem verdächtigen Lebensmittel oder aus Faeces bzw. Erbrochenen des Patienten gefordert. Beim emetischen Krankheitsverlauf ist das schnelle Auftreten von Symptomen, verbunden mit der Isolierung des Keims aus dem Lebensmittel hinreichend für die Diagnose diesen Typs der Lebensmittelvergiftung².

Testprinzip

Im Brilliance™ *Bacillus cereus* ist das chromogene Substrat 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -Glucopyranosid enthalten, das durch die β -Glucosidase aus *B. cereus* gespalten wird und zur Bildung von blau-grünen Kolonien führt.

Polymyxin B hemmt die meisten gramnegativen Organismen sowie einige grampositive Bakterien, darunter *Bacillus* spp., jedoch nicht *B. cereus*. Trimethoprim blockiert die Synthese von Folsäure, die für die DNA-Synthese benötigt wird und wirkt gegen viele grampositive Bakterien, wie *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp. und einige *Bacillus* spp., außer *B. cereus*. Die Kombination beider Antibiotika ist effektiver, als die alleinige Verwendung von Polymyxin B¹.

Aufgrund gleicher biochemischer Merkmale kann auf diesem Nährboden *B. cereus* nicht von *B. thuringiensis* unterschieden werden. *B. thuringiensis* ist vor allem für Insekten pathogen, wobei dieser Keim auch einige Gastroenteritis-Infektionen beim Menschen verursacht hat⁴.

Typische Zusammensetzung

Brilliance™ <i>Bacillus cereus</i> Agar-Basis	(g/l)
Pepton	10,0
Hefeextrakt	4,0
Dinatriumhydrogenphosphat	2,52
Kaliumdihydrogenphosphat	0,28
Natriumpyruvat	10,0
Chromogene Mischung	1,2
Agar	13,0

Brilliance™ *Bacillus cereus* Selektiv-Supplement

(1 Röhrchen supplementiert 500 ml Nährboden)	
Polymyxin B	53000 IU
Trimethoprim	5,0 mg

pH 7,2 \pm 0,2 bei 25 °C

Zubereitung

20,5 g Brilliance™ *Bacillus cereus* Agar-Basis in 500 ml Aqua dest. suspendieren und vorsichtig bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen. Den Inhalt eines Röhrchens Brilliance™ *Bacillus cereus* Selektiv-Supplement aseptisch in 2 ml sterilem Aqua dest. lösen. Den gelösten Inhalt aseptisch zur abgekühlten Brilliance™ *Bacillus cereus* Agar-Basis geben, gut mischen und Platten gießen.

Durchführung

Die folgende Methode stellt eine Empfehlung dar:

1. Lebensmittelprobe 1 : 10 mit 0,1 % (w/v) sterilem Peptonwasser (OXOID, Art.-Nr. CM0009) oder mit Maximaler Wiederbelebungslösung (OXOID, Art.-Nr. CM0733) verdünnen.
2. Probe für 1 Minute mit einem Stomacher homogenisieren.
3. Von dezimalen Verdünnungsstufen des Homogenisats je 0,1 ml auf die zubereiteten Platten pipettieren und mit einem sterilen Spatel verteilen.
4. Platten bei 37 °C für 24 Stunden inkubieren.
5. Platten hinsichtlich der Bildung typischer Kolonien überprüfen.
6. Verdächtige Kolonien mittels geeigneter Methoden biochemisch bestätigen (z.B. Oxidase, Gramfärbung)
7. Die Anzahl mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren und das Ergebnis als Keimzahl *B. cereus* je Gramm Lebensmittel angeben.

500 g Brilliance™ *Bacillus cereus* Agar-Basis ergeben ca. 12 Liter.

Beschaffenheit

Der Trockennährboden ist ein hell gefärbtes, feinfließendes Pulver.

Das Selektiv-Supplement ist ein weißes, gefriergetrocknetes Pellet.

Der zubereitete Nährboden ist strohfarben und transparent.

Vorsichtsmaßnahmen

Nur für den Laborgebrauch bestimmt und von erfahrener Personal einzusetzen.

Den Trockennährboden bzw. das Selektiv-Supplement nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden. Bei sichtbaren Verfallsanzeichen sollten die Produkte ebenfalls nicht eingesetzt werden.

Lagerung und Haltbarkeit

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

Selektiv-Supplement: 2-8 °C.

Bei vorschriftsmäßiger Lagerung sind die Produkte bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendbar.

Qualitätskontrolle

Organismus	Culti-Loop® Art.-Nr.	Typische Koloniefarbe
<i>Bacillus cereus</i> ATCC® 10876	Nicht verfügbar	Blau-grün
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC® 6633	C1221L	Kein Wachstum
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	C7050L	Kein Wachstum

Literatur

1. Cloke, J.M., Ring, M., Campbell, S, Smith, E., Stringer, J. (2003) *Evaluation of a new Oxoid chromogenic agar for the isolation of Bacillus cereus from foods*. Poster. Oxoid & Burton's Foods, UK.
2. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. *Bacillus cereus and other Bacillus spp.* (2003) U.S. Food & Drug Administration (C.F.S.A.N.).
3. The Oxoid Manual (1998) 8th Edition. Oxoid UK.
4. Handbook of Culture Media for Food Microbiology (2003) Volume 37. Chapter 4. *Media for Bacillus spp. and related genera relevant to foods*. Edited by Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W., Baird, R.M. Publisher-Elsevier, Amsterdam.

Oxoid Deutschland GmbH

Postfach 10 07 53 • D-46467 Wesel - Am Lippeglacis 4-8 • 46483 Wesel
Telefon Service-Center (0281)152-233 • Fax (0281)152-214