

Brilliance™ E.Coli/Coliform

Art.-Nr. CM1046

Art.-Nr. PO5176A (Fertigplatte)

Ein selektiver chromogener Nährboden zum Nachweis und Keimzahlbestimmung von *Escherichia coli* und anderen coliformen Keimen aus Lebensmitteln und Wasserproben.



Escherichia coli (violett) &
Klebsiella pneumoniae (rosa)
im Gußplattenverfahren

- **Effektiv**

- Vereinfachte Identifikation**

Innerhalb von 24 Stunden werden distinkt gefärbte Kolonien sichtbar.

- **Überzeugend**

- Leicht zu erkennen, eindeutige Ergebnisse**

Unlösliche Chromophore akkumulieren in der Zelle, was eine einfache Differenzierung auch dicht nebeneinander liegender Kolonien ermöglicht.

- **Vielseitig**

Im Oberflächenverfahren, Membranfilterverfahren oder mit der Gußplattentechnik einsetzbar.

- **Einfach**

Keine Voranreicherung notwendig.

- **Grundlagen**

E. coli und Coliforme sind bedeutende Markerorganismen für die Umwelt- und Lebensmittelhygiene. Der Nachweis bzw. die Keimzählung dieser Bakterien ist daher von großer Bedeutung.

Der Nachweis der β -Glucuronidase-Aktivität wird häufig für die Differenzierung von *E. coli* verwendet, da das Enzym, welches durch das *uidA*-Gen kodiert wird, nur im Genom von *E. coli*, aber nicht in anderen coliformen Keimen vorhanden ist. Die durch das *lacZ*-Gen kodierte β -Galactosidase-Aktivität der Coliformen (Lactose-positiv) dient wiederum zur Differenzierung dieser Bakterien von anderen Mikroorganismen, die auf diesem selektiven Agar zu wachsen vermögen. Im Ergebnis bilden sich violett-gefärbte *E. coli* aufgrund der Fähigkeit, beide Chromogene zu spalten bzw. rosa-gefärbte coliforme Keime, weil diese nur das chromogene Substrat der β -Galactosidase spalten können.

Brilliance™ E.Coli/Coliform

Art.-Nr. CM1046

Verwendungszweck

Brilliance™ E.Coli/Coliform kann zum Nachweis und Keimzahlbestimmung von *E. coli* und Coliformen in Lebensmitteln und Wasserproben verwendet werden.

Zusammenfassung

Brilliance™ E.Coli/Coliform enthält zwei chromogene Substrate:

- **Rose-Gal** – zum Nachweis der β -Galactosidase-Aktivität
 - **X-Glu** – zum Nachweis der β -Glucuronidase-Aktivität
- Zusätzlich enthält der Nährboden Natriumlaurylsulfat, das als selektives Agens das Wachstum grampositiver Organismen unterdrückt.

Testprinzip

Die Fähigkeit der Mehrzahl der Coliformen zur Verwertung von Lactose ermöglicht die Spaltung des Chromogens Rose-Gal. Dadurch färben sich die Kolonien rosa. *E. coli* exprimiert zusätzlich die β -Glucuronidase, die hochspezifisch für diesen Organismus ist und deshalb zur Differenzierung von anderen Coliformen genutzt wird. Target für das Enzym ist das X-Glu – Chromogen. Die Fähigkeit von *E. coli*, beide chromogene Substrate zu spalten, führt zu den typisch violett-gefärbten Kolonien.

Keim	β -Glucuronidase	β -Galactosidase	Koloniefarbe
<i>E. coli</i>	+	+	violett
Coliforme	-	+	rosa
Andere Organismen	-	-	farblos blau

Typische Zusammensetzung

	(g/l)
Pepton	8,0
Dinatriumphosphat	2,2
Natriumchlorid	5,0
Kaliumdihydrogenphosphat	1,8
Natriumlaurylsulfat	0,1
Chromogene Substanzen	0,35
Agar	10,6

pH 6,7 \pm 0,2

Zubereitung

28,1g Brilliance™ E.Coli/Coliform in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen vorsichtig erhitzen. (Einmal kurz aufkochen!) Nach dem Abkühlen den Agar in sterile Petrischalen gießen oder bei 45 °C für das Plattengußverfahren geschmolzen halten.

Durchführung

Die Lebensmittelproben 1 : 5 oder 1 : 10 mit 0,1 % (w/v) sterilem Peptonwasser (OXOID, Art.-Nr. CM0009) verdünnen und mit einem Stomacher homogenisieren. Stark kontaminierte Wasserproben sollten zuerst mit Ringer-Lösung (OXOID, Art.-Nr. BR0052) oder Maximaler Wiederbelebungslösung (OXOID, Art.-Nr. CM0733) verdünnt werden, so daß die erwartete Keimzahl ca. 20 – 100 cfu beträgt. Wasserproben aus dem Umweltbereich sollten entweder mittels Zentrifugation oder Membranfiltertechnik aufkonzentriert werden.

Folgende Inkubationsbedingungen können angewendet werden:

1) Oberflächenverfahren

Auf die getrocknete Oberfläche der zubereiteten Platten 0,1 ml der Probe pipettieren und mit einem sterilen Spatel verteilen. Platten für 24 h bei 37 °C inkubieren.

2) Gußplattenverfahren

1 ml der zubereiteten Probe in eine leere Petrischale pipettieren. 15 – 20 ml des auf 45 °C abgekühlten Agars zugeben. Platten vorsichtig mischen und erstarren lassen. Inkubation der Platten für 24 h bei 37 °C.

3) Membranfilterverfahren

Oberfläche der zubereiteten Platten trocknen lassen. Ein entsprechendes Volumen der Probe filtrieren. Die Membran auf die Oberfläche des Agars legen, dabei die Bildung von Luftblasen unter der Membran vermeiden.

Bei allen Methoden die Anzahl rosa- und violett-gefärbter Kolonien zählen. Die Zahl mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren und das Ergebnis als Keimzahl der Coliformen bzw. *E. coli* je Gramm Lebensmittel oder Volumen Wasser angeben.

500 g Brilliance™ E.Coli/Coliform ergeben ca. 17,5 Liter.

Beschaffenheit

Der Trockennährboden ist ein hell gefärbtes, feinfließendes Pulver.

Der zubereitete Nährboden ist strohfarben 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	violett
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 13883	C7037L	rosa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	C7010L	inhibiert

Literatur

1. Kilian, M., Bulow, P. (1976) *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B* 84:245-251.
2. Kilian, M., Bulow, P. (1979) *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B* 87:271-276.
3. Frampton, E.W., Restaino, L., Blaszkowski, N. (1988) *J. Food Prot.* 51(5):402-404.

Oxoid Deutschland GmbH

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