

Mineralien-Modifizierter Glutaminat Agar (MMGA)

Allgemeine Information

Nährboden zur Wiederbelebung von geschädigten *Escherichia coli* aus Lebensmitteln.

In Kombination mit dem Chromocult TBX Agar ist der direkte Nachweis von *E. coli* mit dem Membranfilter-Verfahren entsprechend ISO 16649-1 möglich.

Dieses Membranfilter-Verfahren mit dem Wiederbelebungsschritt sollte vor allem bei Lebensmitteln verwendet werden, deren Bearbeitung zu einer Schädigung der Zielorganismen führen kann (z.B. erhitzen, trocknen, chemisch konservieren, tiefrieren, ansäuern).

Wirkungsweise

Die Kombination von Glutaminat mit ausgewählten Mineralien führt zu einer sehr schnellen und effektiven Wiederbelebung von geschädigten *E. coli*. Nach einer Inkubation der geschädigten Keime auf dem MMGA von 4 Stunden bei 37°C ist der Reparaturprozess der Bakterien so weit fortgeschritten, dass ein Anwachsen auf einem Selektivnährboden (Chromocult TBX Agar) bei 44°C gewährleistet ist.

Typische Zusammensetzung (g/liter)

Natriumglutaminat 6,35; Lactose 10,0; Natriumformiat 0,25; L-Cystin 0,02; L-Asparaginsäure 0,02; L-Arginin 0,024; Thiamin 0,001; Nikotinsäure 0,001; Pantothensäure 0,001; Magnesiumsulfat Heptahydrat 0,1; Ammoniumeisen(III)citrat 0,01; Calciumchlorid Dihydrat 0,01; di-Kaliumhydrogenphosphat 0,9; Ammoniumchlorid 2,5; Agar-Agar 10,0.

Zubereitung

15,1 g in 500 ml demineralisiertem Wasser im siedenden Wasserbad oder im strömenden Dampf unter regelmäßigem Umschwenken solange kochen, bis der Nährboden vollständig gelöst ist.

Schonend autoklavieren (10 Minuten bei 115°C). Bei zu starker Hitzebelastung verändert sich der pH-Wert.

Den Nährboden auf 45 – 50°C im Wasserbad abkühlen und Platten gießen (12 – 15 ml).

pH: 6,7 ± 0,2 at 25 °C.

Der zubereitete Nährboden ist klar und gelblich.

Lagerung

Die zubereiteten Platten sind bei entsprechender Lagerung (+2°C bis +8°C) - vor Austrocknung und Licht geschützt - 5 Tage haltbar.

Trocken und gut verschlossen bei +15°C bis +25°C bis zum Verfalldatum verwendbar.

Nachweisverfahren und Auswertung

Die Platten auf Raumtemperatur bringen.

Beimpfung

Ein Cellulose-Mischester Membranfilter (z.B. Sartorius Cellulose Nitrat Filter #11306-85-K, Pall GN-6 Metricel P/N 60016 - jeweils 0,45 µm Porengröße und 85 mm Durchmesser) mit einer sterilen Pinzette auf die Agaroberfläche legen. Dabei Luftblasen vermeiden

Mit einer sterilen Pipette 1 ml der Probe in der Mitte der Membran aufbringen und mit einem sterilen Spatel gleichmäßig über die Membran verteilen. Die Membran nicht beschädigen. Pro Verdünnung werden jeweils 2 Platten beimpft.

Die beimpften Platten in horizontaler Position bei Raumtemperatur für etwa 15 Minuten stehen lassen, bis das Inokulum vollständig eingezogen ist.

Wiederbelebung (MMGA)

4 ± 1 Stunden bei 35 - 37 °C mit der Membran nach oben.

Transfer auf das Selektivmedium:

Die Membran mit einer sterilen Pinzette vom MMGA vorsichtig abheben und ohne Luftblasenbildung auf dem Chromocult TBX Agar ablegen.

Bebrütung:

21 ± 3 Stunden bei 44 ± 1°C mit der Membran nach oben. Nicht mehr als 3 Platten übereinander stapeln.

Auswertung (Chromocult TBX Agar):

Sämtliche Kolonien, die auf der Membran blaugrün erscheinen, werden als β-Glucuronidase-positive *E. coli* Kolonien (typische Kolonien) gezählt.

Die Verdünnung der Probe so wählen, dass auf der Membran eine Zahl von 150 typischen *E. coli* Kolonien bzw. eine Gesamt-Koloniezahl von 300 Kolonien nicht überschritten wird.

Literatur

ISO INTERNATIONAL STANDARDISATION ORGANISATION Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of β-glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 1: Colony-count technique at 44°C using membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide. ISO 16649-1:2001 (E).

Bestellinformationen

Produkt	Bestell-Nr.	Packungsgröße
Mineralien-Modifizierter Glutaminat Agar (500 g)	1.09045.0500	500 g
Chromocult® TBX Agar	1.16122.0500	500 g

Mineralien-Modifizierter Glutaminat Agar (MMGA)

Qualitätskontrolle

Teststämme	Hitzeschädigung 55°C	Wiederbelebung (MMGA)	Wiederfindungs- rate TBX	Koloniefarbe TBX
Escherichia coli ATCC 25922	2-5 min	4 h	> 70%	blau-grün
Escherichia coli ATCC 11775	2-5 min	4 h	> 70%	blau-grün
Citrobacter freundii ATCC 8090	2-5 min	4 h	< 0,001%	-
Enterococcus faecalis ATCC 19433	2-5 min	4 h	< 0,001%	-