

Baird-Parker-Nährboden mit Eigelb-Kaliumtellurit-Emulsion

Diagnostischer Selektivnährboden zur Isolierung und Koloniezahlbestimmung von *Staphylococcus aureus* aus Lebensmitteln.

Der Nährboden entspricht dem Agarmedium O (Agarmedium nach Baird-Parker) der EP¹, dem § 35 LMBG² sowie DIN EN ISO 6888-1³.

Baird-Parker-Nährboden-Basis

Art.-Nr. CM 275

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Caseinpepton	10,0
Fleischextrakt 'Lab-Lemco'	5,0
Hefeextrakt	1,0
Natriumpyruvat	10,0
Glycin	12,0
Lithiumchlorid	5,0
Agar	20,0
pH 6,8 ± 0,2	

Zubereitung

63 g Baird-Parker-Nährboden-Basis in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen. Aseptisch 50 ml Eigelb-Kaliumtellurit-Emulsion (OXOID, Art.-Nr. SR 54) zufügen. Gut mischen und Platten gießen.

Beschreibung

Baird-Parker-Nährboden mit Zusatz von Eigelb-Kaliumtellurit-Emulsion

Baird-Parker⁴ modifizierte den Tellurit-Glycin-Nährboden nach Zebowitz et al.⁵ und verbesserte dessen Zuverlässigkeit bei der Isolierung von *Staphylococcus aureus* aus Lebensmitteln. Um geschädigte Zellen zu schützen und besser wiederauffinden zu können, fügte Baird-Parker Natriumpyruvat⁶ sowie Eigelb-Kaliumtellurit-Emulsion als Diagnostikum zu. Dies wird nun allgemein von nationalen und internationalen Körperschaften zur Isolierung von *S. aureus* empfohlen^{1-3,7}. Die Anteile der selektiven Agenzien Glycin, Lithium und Tellurit sind sorgfältig aufeinander abgestimmt, um einerseits das Wachstum der meisten in Lebensmitteln vorkommenden Bakterien zu unterdrücken, ohne andererseits *S. aureus* zu hemmen.

Durch die Eigelb-Emulsion wird der Nährboden gelb und opak gefärbt. *S. aureus* bildet durch die Reduktion von Tellurit grauschwarze, glänzende Kolonien und erzeugt dann durch Proteolyse klare Zonen um die Kolonien herum. Diese klare Zone zusammen mit der typischen grauschwarzen Kolonie ist ein diagnostisches Merkmal

für *S. aureus*. Bei weiterer Bebrütung bilden die meisten *S. aureus*-Stämme – wahrscheinlich durch Lipase-Aktivität – opake Höfe in den klaren Zonen. Allerdings weisen nicht alle *S. aureus*-Stämme beide Reaktionen auf. Einige *S. saprophyticus*-Stämme erzeugen ebenfalls sowohl klare als auch opake Zonen. Sie können mit einiger Erfahrung von *S. aureus* durch die für sie erforderliche längere Bebrütungszeit unterschieden werden⁸.

S. aureus-typische Kolonien ohne Eigelb-Reaktion sollten ebenfalls auf Koagulase-Bildung untersucht werden⁹. *S. aureus*-Stämme ohne Eigelb-Reaktion können in einigen Lebensmitteln, besonders Käse auftreten.

Smith und Baird-Parker¹⁰ stellten fest, daß der Zusatz von Sulfamethazin (50 µg/ml) das Wachstum und das Schwärmen von *Proteus* unterdrückt. Geringe Anzahlen von *S. aureus* konnten auf diese Weise in Untersuchungsmaterial, das Mischkulturen mit *Proteus* enthielt, ermittelt werden.

Baird-Parker und Davenport¹¹ zeigten, daß die Wiederauffindung von geschädigten Staphylokokken auf Baird-Parker-Nährböden besser möglich ist als auf anderen untersuchten Nährböden.

Broeke¹² und de Waart et al.¹³ bewerteten den Baird-Parker-Nährboden positiv bei Untersuchungen von Lebensmitteln, die mit *Staphylococcus*-Enterotoxin belastet waren. 97,5% der insgesamt 522 getesteten *S. aureus*-Stämme, die aus menschlichem Material und aus Lebensmitteln isoliert wurden, entwickelten sich auf dem Baird-Parker-Nährboden charakteristisch und quantitativ.

Die Staphylokokken-Enterotoxine A, B, C, und D können mit dem OXOID SET-RPLA (Art.-Nr. TD 900) nachgewiesen werden.

Kulturverfahren

1. Platten vor der Anwendung kurz trocknen.
2. Lebensmittel in 0,25%iger Ringer-Lösung (OXOID, Art.-Nr. BR 52) oder Kochsalz-Pepton-Lösung^{2,3} (Maximal-Wiederbelebungslösung, OXOID Art.-Nr. CM 733) verdünnen. Aliquots von 0,1 ml mit einem Glasspatel auf der Oberfläche ausstreichen, bis sie eingezogen sind. Auf größeren Petrischalen (Ø 14 cm) können Aliquots bis zu 0,5 ml verwendet werden.
3. Platten umdrehen, bei 36°C bebrüten und nach 24 Stunden auf typische *S. aureus*-Kolonien untersuchen. Negative Kulturen weitere 24 Stunden bebrüten.

Koloniemorphologie auf Baird-Parker-Nährboden mit Zusatz von Eigelb-Tellurit-Emulsion

Staphylococcus aureus

Gutes Wachstum; grauschwarze, glänzende, gewölbte Kolonien, nach 18 Stunden Bebrütung Ø 1-1,5 mm, nach 48 Stunden Bebrütung Ø bis zu 3 mm mit einem schmalen weißen, vollständigen Rand um die Kolonie, umgeben von einer klaren Zone von 2-5 mm. Nach 24 Stunden Bebrütung können in den klaren Zonen opake Höfe auftreten.

Staphylococcus epidermidis

Variables Wachstum; matte, schwarze Kolonien, selten von klarer Zone umgeben.

Staphylococcus saprophyticus

Variables Wachstum; Kolonien von unregelmäßiger Form, es kann eine klare Zone gebildet werden. Nach 24 Stunden Bebrütung können große, opake Zonen entstehen.

Micrococcus spp.

Variables Wachstum; sehr kleine, bräunliche und schwärzliche Kolonien ohne klare Zone.

Bacillus spp.

Variables Wachstum; dunkelbraune, matte Kolonien, nach 48 Stunden Bebrütung gelegentlich von klarer Zone umgeben.

Escherichia coli

Variables Wachstum; große, braunschwarze Kolonien.

Proteus spp.

Variables Wachstum; braunschwarze Kolonien ohne klare Zone.

Hefen

Variables Wachstum; weiße Kolonien ohne klare Zone.

Quantitative Ergebnisse

Platten 48 Stunden bebrüten, danach Platten mit 20-200 Kolonien auswählen.

Staphylococcus-ähnliche Kolonien auszählen und auf Koagulase-Reaktion untersuchen. Nach § 35 LMBG (L 01.00-24: "Bestimmung Koagulase-positiver Staphylokokken in Milch und Milchprodukten") ist für die Bestätigung neben dem Koagulase-Test auch die Anwendung von Schnelltesten möglich, "wenn diese Teste den 'Clumping-Faktor' erfassen und keine falsch-positiven Resultate erbringen". Koloniezahl von *S. aureus* je Gramm Lebensmittel angeben.

Bestätigung

Typische und atypische Kolonien können geprüft werden mittels:

- Röhrchenkoagulase: Prüfung der freien Koagulase
- Clumping-Faktor: Bestimmung der zellwandgebundenen Koagulase (z. B. mit OXOID Staphylase-Test, Art.-Nr. DR 595)
- Prüfung von Clumping-Faktor, Protein A und Kapselpolysaccharide (z. B. mit OXOID Dryspot Staphylect Plus, Art.-Nr. DR100).

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Eigelb-Kaliumtellurit-Emulsion: -20° bis +8°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett

Durch die Stabilisierung der OXOID-Eigelb-Kaliumtellurit-Emulsion können damit gegossene Platten im Gegensatz zu den üblichen Nährböden vier Wochen bei 2-8°C gelagert werden.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Negativkontrolle

Bacillus subtilis ATCC 6633

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228

Literatur

1. 2.6.13. Mikrobiologische Prüfung nicht steriler Produkte in: Europäisches Arzneibuch Nachtrag 2001.
2. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 01.00-23: "Nachweis Koagulase-positiver Staphylokokken in Milch und Milchprodukten".

3. DIN EN ISO 6888-1: "Horizontales Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) Teil 1: Verfahren mit Baird Parker Agar".
4. Baird-Parker, A.C. (1962) *J. Appl. Bacteriol.* 25, 12-19.
5. Zebovitz, E., Evans, J.B. und Niven, C.F. (1955) *J. Bacteriol.* 70, 686-689.
6. Baird-Parker, A.C. (1963) *J. Gen. Microbiol.* 30, 409-413.
7. Chopin, A. et al. (1985) *ICMSF Methods Studies XV. J. Food Protect.* 48, 21-27.
8. Shaw, S., Scott, M. und Cowan, T. (1957) *J. Gen. Microbiol.* 5, 1010-1023.
9. de Vries, L.A. und Hajek, V. (1960) *J. Appl. Bacteriol.* 49, 1-11.
10. Smith, B.A. und Baird-Parker, A.C. (1964) *J. Appl. Bacteriol.* 27 (1), 78-82.
11. Baird-Parker, A.C. und Davenport, E. (1965) *J. Appl. Bacteriol.* 28, 390-402.
12. Broeke, R. Ten (1967) *Antonie van Leeuwenhoek.* 33, 220-236.
13. de Waart, J. et al. (1968) *J. Appl. Bacteriol.* 31, 276-285.