

Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung

Art.-Nr. CM 31

Zur selektiven Anreicherung und Titerbestimmung von *Escherichia coli* und anderen coliformen Keimen aus Wasser, Milch, Lebensmitteln und anderem Untersuchungsmaterial.

Lactose-verwertende Anaerobier wie *Clostridium perfringens* werden durch den Zusatz von Brillantgrün unterdrückt.

Der Nährboden wird zur Bestätigung von *Escherichia coli* bei einer Bebrütung von 44°C empfohlen.

Der Nährboden entspricht der ISO¹, dem Internationalen Milchwirtschaftsverband (FIL/IDF)²⁻⁴ und dem § 35 LMBG^{5,6}.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Pepton	10,0
Lactose	10,0
Rindergalle, gereinigt	20,0
Brillantgrün	0,0133
pH 7,4 ± 0,2	

Zubereitung

40 g Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung in 1 l Aqua dest. lösen, gut mischen und auf Röhrchen mit eingelegten Durham-Röhrchen verteilen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren.

Anmerkung: Alternativ kann die Lösung 30 Minuten auf 100°C erhitzt werden; dieses Verfahren wird für das Ansetzen der doppelkonzentrierten Lösung (4%) empfohlen⁷.

DOPPELTKONZENTRIERTE LÖSUNG NICHT AUTOKLAVIEREN!

Beschreibung

Die Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung wurde von Durham und Schoenlein⁸ zur Selektion von Bakterien der "Coli-Aerogenes-Gruppe" entwickelt. Galle und Brillantgrün hemmen grampositive Bakterien; die "Coli-Aerogenes-Gruppe" ist durch schnelle Gasbildung während der Lactose-Verwertung charakterisiert⁹. Entscheidend ist hierbei die Balance der hemmenden Agenzien mit den Nähr- und Mineralstoffkomponenten, so daß Clostridien- und Bacillus-Sporen nicht zu einer falsch-positiven Reaktion, z.B. durch Gasbildung, führen.

Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung wird zur Untersuchung von Wasser, Molkereiprodukten und Lebensmitteln eingesetzt^{1-4,10,11}. In den Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG wird die Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung nur für die Bestimmung der *Escherichia coli* empfohlen. Für die Bestimmung der coliformen Keime in Milch, Milchpro-

dukten, Butter, Käse und Speiseeis wird seit kurzem anstelle der Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung die Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung (OXOID, Art.-Nr. CM 451) empfohlen⁵.

Kulturverfahren

Zum Nachweis von *Escherichia coli* wird die Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung bei $44 \pm 1^\circ\text{C}$ 48 Stunden lang bebrütet. Trübung der Lösung und Gas-Bildung in den Durham-Röhrchen gelten als positive Anzeichen. Zur Bestätigung von *E. coli* sollte ebenfalls die Indol-Bildung bei 44°C in Caseinpeptonwasser (OXOID, Art.-Nr. CM 87) oder in Peptonwasser (OXOID, Art.-Nr. CM 9) geprüft werden.

Zerkleinerte Lebensmittel in Zehnerschritten verdünnen und der Lösung in einem Verhältnis von 1:10 zusetzen. Bei großen Volumina sollte die doppelkonzentrierte Lösung verwendet werden.

Bei Wasseruntersuchungen werden häufig Volumina von 1-10 ml verwendet. Hierbei ist zu beachten, daß der Nährboden nicht zu stark verdünnt wird. 1 ml oder weniger können zu 10 ml Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung zugesetzt werden. Bei Volumina von 10 ml und mehr sollte Brillantgrün-Galle-Lactose-Lösung doppelkonzentriert in gleicher Menge eingesetzt werden.

Bakterienwachstum führt zu Trübung und gelb-grüner Verfärbung der Lösung. Bei gleichzeitig reichlicher Gas-Bildung nach 48 Stunden Bebrütung bei 36°C besteht Verdacht auf Bakterien der "Coli-Aerogenes-Gruppe".

Escherichia coli wird durch 48stündiges Bebrüten bei 44°C , Bakterien der "Coli-Aerogenes-Gruppe" durch 25-48stündiges Bebrüten bei 30°C ^{7,12} und psychrotrophe coliforme Keime durch zehntägiges Bebrüten bei 4°C nachgewiesen.

Bestätigungen sollten stets durchgeführt werden.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, $10\text{-}25^\circ\text{C}$.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Escherichia coli ATCC 25922

Enterobacter aerogenes ATCC 13048

Negativkontrolle

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Bacillus cereus ATCC 10876

Zusätzliche Hinweise

Die Galle-/Brillantgrün-Hemmung kann durch manche Lebensmittel abgeschwächt werden, so daß grampositive Sporenbildner wachsen und Gas bilden können.

Literatur

1. ISO/DIS 3811: "Meat and meat products. Detection and enumeration of presumptive coliform bacteria and presumptive *Escherichia coli*. Reference method."
2. Internationaler Milchwirtschaftsverband (1971) "Coliformenzählung in Sauermilcherzeugnissen". Internationaler Standard FIL/IDF 65 (1973) Milchwiss. 28, 345-347.
3. Internationaler Milchwirtschaftsverband (1971) "Coliformenzählung in Milchpulver und Molkenpulver". Internationaler Standard FIL/IDF 64 (1974) Milchwiss. 29, 527-529.

4. Internationaler Milchwirtschaftsverband (1974) "Zählung coliformer Bakterien in Milch und Milchprodukten". Internationaler Standard FIL/IDF 73 (1976) Milchwiss. 31, 606-611.
5. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 01.00-25: "Bestimmung der *Escherichia coli* in Milch, Milchprodukten, Butter, Käse und Speiseeis".
6. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 06.00-44: "Nachweis von *Escherichia coli* O157 in Fleisch- und Fleischerzeugnissen".
7. Baird, R.M., Corry, J.E.L. und Curtis, G.D.W. (Eds.) (1987) "Pharmacopeia of culture media for food microbiology". Internat. J. Food Microbiol. 5, 206-207.
8. Durham, H.G. und Schoenlein, H.W. (1926) Stain Techn. 1, 129-134.
9. Mackenzie, E.F.W., Windle-Taylor, E. und Gilbert, W.E. (1948) J. Gen. Microbiol. 2, 197-204.
10. AOAC (1978) "Bacteriological analytical manual". 5th Edn. AOAC, Washington, D.C.
11. Labots, H. und Galesloot, Th.E. (1960) Rapp. Ned. Inst. Zuivelonderz. 25-31.
12. Lightbody, L.G. (1963) Aust. J. Dairy Techn. 18, 202-203.