

Enterobacteriaceae- Anreicherungsbouillon nach Mossel

(E.E.-Bouillon)

Art.-Nr. CM 317

Zur Anreicherung von *Enterobacteriaceae* aus Lebensmitteln.

Der Nährboden entspricht den Empfehlungen der DGHM¹, der Eiprodukte-Verordnung^{2,3} und dem Anreicherungsmedium E des Europäischen Arzneibuches⁴.

| Typische Zusammensetzung | (g/l) |
|---------------------------|--------|
| Pepton | 10,0 |
| Glucose | 5,0 |
| Dinatriumhydrogenphosphat | 6,45 |
| Kaliumdihydrogenphosphat | 2,0 |
| Rindergalle, gereinigt | 20,0 |
| Brillantgrün | 0,0135 |
| pH 7,2 ± 0,2 | |

Zubereitung

43,5 g Enterobacteriaceae-Anreicherungsbouillon nach Mossel in 1 l Aqua dest. lösen. Jeweils 100 ml auf 250 ml-Kolben verteilen. 30 Minuten im Dampftopf (100°C) halten und danach schnell unter fließend kaltem Wasser abkühlen. NICHT AUTOKLAVIEREN UND ÜBERHITZEN VERMEIDEN!

Beschreibung

Enterobacteriaceae-Anreicherungs-Bouillon nach Mossel ist eine gepufferte Glucose-Brillantgrün-Bouillon, die zur Anreicherung von *Enterobacteriaceae* bei der bakteriologischen Untersuchung von Lebensmitteln⁵ und Tierfutter⁶ empfohlen wird. Dieser Nährboden wirkt durch Brillantgrün und Gallensalze stärker hemmend auf Nicht-*Enterobacteriaceae* als andere nichtselektive Nährböden wie z.B. Mannit-Bouillon⁷ oder Lactose-Bouillon⁸.

Die Koloniezahlbestimmung von *Enterobacteriaceae* ist bei der hygienischen Qualitätsüberwachung von Lebensmitteln und Pharmazeutika von hoher Bedeutung. Die Zuverlässigkeit der verwendeten Untersuchungsmethoden hängt jedoch von der Wiederbelebung geschädigter Zellen ab. Zellen können durch Trocknung, durch einen niedrigen pH-Wert oder andere ungünstige Faktoren geschädigt werden.

Zur Untersuchung getrockneter Lebensmittel¹⁰, von Tierfutter¹¹ und halbkonservierten Lebensmitteln¹² sollte der Anreicherung eine zweistündige Wiederbelebung bei 25°C in Caseinpepton-Sojamehlpepton-Lösung USP (OXOID, Art.-Nr. CM 129) vorausgehen. Bei besonders trockenen Produkten kann eine längere Wiederbelebung bis max. acht Stunden notwendig werden.

Enterobacteriaceae-Anreicherungsbouillon nach Mossel enthält gereinigte Rindergalle, so daß unerwünschte Hemmungseffekte durch variierende Gallensalze besonders bei geringem Vorkommen von *Enterobacteriaceae* vermieden werden. Zur Wachstumsüberprüfung kann vorab mit einem kleinen Inokulum je Kolben beimpft werden^{13,14}.

Zur bakteriologischen Bewertung verarbeiteter Lebensmittel kann die ganze Gruppe der *Enterobacteriaceae* als

'Indikator-Keime' verwendet werden¹⁵. Auf diese Weise werden eventuell auftretende Diskrepanzen bei Anwesenheit Lactose-negativer, anaero gener Lactose-positiver oder spät Lactose-verwertender *Enterobacteriaceae* vermieden, die mit der normalen Prüfung auf Keime der 'Coli-Aerogenes-Gruppe' nicht erfaßt würden. Um diese Problematik zu vermeiden, wurde Lactose durch Glucose ersetzt. Mossel et al.⁵ zitierten mehrere Beispiele aus der Literatur, bei denen verschiedene Lebensmittel mit Salmonellen kontaminiert waren, obwohl die Prüfung auf coliforme Keime negativ ausgefallen war. In einer späteren Veröffentlichung erwähnen Mossel et al.¹³ den Ausbruch einer Diarrhöe, die durch französischen Weichschimmelkäse verursacht wurde, der mit *Escherichia coli* Serotyp 0124 kontaminiert war. Dieser Keim ist Lactose-negativ und wurde daher bei der Prüfung auf coliforme Keime nicht erfaßt. Wäre das Produkt auf *Enterobacteriaceae* geprüft worden, wäre der Keim erfaßt worden, da er Glucose sehr schnell verwertet.

Die Enterobacteriaceae-Anreicherungsbouillon nach Mossel sollte als Anreicherung in Verbindung mit Kristallviolett-Galle-Glucose-Agar (OXOID, Art.-Nr. CM 485) verwendet werden. Falls sich die Fragestellung nicht auf den allgemeinen Nachweis von *Enterobacteriaceae* beschränkt, sollten Subkulturen auf Lactose-Differenzierungsnährböden angelegt werden. Geeignete Nährböden sind z.B. Desoxycholat-Citrat-Agar nach Leifson (OXOID, Art.-Nr. CM 35), Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar, mod. (OXOID, Art.-Nr. CM 329) oder MacConkey-Nährboden (OXOID, Art.-Nr. CM 7).

Kulturverfahren

Die zu untersuchende Probe sollte 10 g nicht unterschreiten, damit eine gute Ausbeute des gesuchten Keimes erzielt wird.

1. Zur Wiederbelebung geschwächter Zellen Lebensmittel in einer 1:10-Verdünnung in Caseinpepton-Sojamehlpepton-Lösung (OXOID, Art.-Nr. CM 129) 2-8 Stunden bei 25°C bebrüten. Die Flüssigkeitsschicht sollte nicht höher als 1 cm sein. Den Inhalt des Kolbens vorsichtig mischen.
2. Nach der Wiederbelebung ein 10faches Volumen Enterobacteriaceae-Anreicherungsbouillon nach Mossel zusetzen.
3. Zum Mischen wie oben schütteln. Bei großen Probenvolumina ist es besser, die Wiederbelebungslösung mit dem Untersuchungsmaterial zu einem gleichen Volumen doppelkonzentrierter Enterobacteriaceae-Anreicherungsbouillon zu geben.
4. Bebrütung:
18 Stunden bei 44°C für thermophile Bakterien, 24-48 Stunden bei 32°C für mesophile Bakterien und 10 Tage bei 4°C für psychrotrophe Bakterien. Dauer und Temperatur der Bebrütung hängen von der gesuchten Enterobacteriaceae-Gruppe ab.
5. Röhrchen begutachten und auf Trübung mit Farbveränderung nach gelblichgrün als vorläufigen Hinweis auf *Enterobacteriaceae* achten.
6. Subkulturen können auf Kristallviolett-Galle-Glucose-Agar (OXOID, Art.-Nr. CM 485) oder auf Lactoseenthaltenden Nährböden zur Bestätigung Lactose-positiver oder Lactose-negativer Keime angelegt werden.

Zur Bestätigung der Identifizierung müssen weitere Testungen durchgeführt werden.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Yersinia enterocolitica NCTC 10460

Escherichia coli ATCC 25922

Negativkontrolle

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Zusätzliche Hinweise

Überhitzen des Nährbodens, besonders der doppelt konzentrierten Bouillon vermeiden.

Literatur

1. DGHM (Lieferung 2, 1983): "Verfahrensrichtlinien für die Mikrobiologische Diagnostik". Kap. 2.1, S. 18.
2. Eiprodukte-Verordnung vom 19.2.1975, BGBl I, S. 532 u. 1031; letzte Veränderung vom 22.12.1981, BGBl. I S. 1625.
3. EG-Richtlinie zur Regelung hygienischer und gesundheitlicher Fragen bei der Herstellung und Vermarktung von Eiprodukten v. 20.06.1989.
4. 2.6.13. Mikrobiologische Prüfung nicht steriler Produkte in: Europäisches Arzneibuch Nachtrag 2001.
5. Mossel, D.A.A., Vissar, M. und Cornelissen, A.M.R. (1963) J. Appl. Bacteriol. 26 (3), 444-452.
6. van Schothorst, M. et al. (1966) Vet. Med. 13 (3), 273-285.
7. Taylor, W.I. (1961) Appl. Microbiol. 9, 487-490.
8. North, W.R. (1961) Appl. Microbiol. 9, 188-195.
9. Mossel, D.A.A. und Harrewijn, G.A. (1972) Alimenta. 11, 29-30.
10. Mossel, D.A.A. und Ratto, M.A. (1970) Appl. Microbiol. 20, 273-275.
11. Mossel, D.A.A., Shennan, J.L. und Vega, C. (1973) J. Sci. Fd. Agric. 24, 499-508.
12. Mossel, D.A.A. und Ratto, M.A. (1973) J. Fd. Technol. 8, 97-103.
13. Mossel, D.A.A., Harrewijn, G.A. und Nesselrooy-van Zadelhoff, C.F.M. (1974) Health Lab. Sci. 11, 260-267.
14. Richard, N. (1982) in "Quality assurance and quality control of microbiological culture media". Hrsg.: J.E.L. Corry, G.I.T.-Verlag, Darmstadt. S. 51-57.
15. Mossel, D.A.A. (1973) Food R.A. Technical Circular Nr. 526, Februar 1973.