

Hefeextrakt-Glucose-Antibiotika-Selektivnährböden

Hefeextrakt-Glucose-Oxytetracyclin-Selektivnährboden (OGYE-Selektivnährboden)

Hefeextrakt-Glucose-Chloramphenicol-Selektivnährboden

Zum Nachweis und zur Koloniezahlbestimmung von Hefen und Schimmelpilzen aus Lebensmitteln. Der Nährboden mit Chloramphenicol-Zusatz entspricht den Empfehlungen des § 35 LMBG¹ und der DIN 10186².

Hefeextrakt-Glucose-Agar-Basis

(OGYE-Agar-Basis)

Art.-Nr. CM 545

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Hefeextrakt	5,0
Glucose	20,0
Agar	12,0
pH 7,0 ± 0,2	

Oxytetracyclin-Selektiv-Supplement

Art.-Nr. SR 73

Zusammensetzung je Röhrrchen
(1 Röhrrchen je 500 ml)
Oxytetracyclin 50 mg

Chloramphenicol-Selektiv-Supplement

Art.-Nr. SR 78

Zusammensetzung je Röhrrchen
(1 Röhrrchen je 500 ml)
Chloramphenicol 50 mg

Zubereitung

18,5 g Hefeextrakt-Glucose-Agar-Basis in 500 ml Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 10 Minuten bei 115°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen.

Hefeextrakt-Glucose-Oxytetracyclin-Selektivnährboden

Den Inhalt eines Röhrrchens Oxytetracyclin-Selektiv-Supplement aseptisch in 10 ml sterilem Aqua dest. lösen und zu 500 ml steriler, abgekühlter Nährbodenbasis geben. Gut mischen und Platten gießen.

Hefeextrakt-Glucose-Chloramphenicol-Selektivnährboden

Den Inhalt eines Röhrrchens Chloramphenicol-Selektiv-Supplement aseptisch in 3 ml Aceton lösen und zu 500 ml steriler, abgekühlter Nährbodenbasis geben. Gut mischen und Platten gießen.

Chloramphenicol-Selektiv-Supplement kann auch vor dem Autoklavieren zugegeben werden.

Beschreibung

Hefeextrakt-Glucose-Antibiotika-Selektivnährböden werden zur Selektion und Koloniezahlbestimmung von Hefen und Schimmelpilzen aus Lebensmitteln empfohlen¹⁻⁴.

Der Selektivnährboden mit Oxytetracyclin-Zusatz zur Selektion basiert auf der Zusammensetzung von Mossel et al.⁵. Sie stellten fest, daß die Verwendung dieses Antibiotikums in einem Nährboden mit neutralem pH-Wert eine höhere Ausbeute an Hefen und Schimmelpilzen aus verschiedenen Lebensmitteln ergibt als Nährböden, die das Prinzip des niedrigen pH-Wertes zur Unterdrückung der bakteriellen Begleitflora verwenden. Physikalisch geschädigte Hefezellen ergeben eine höhere Ausbeute auf Nährböden, die Breitspektrum-Antibiotika enthalten als auf Nährböden, die zur Selektion einen niedrigen pH-Wert aufweisen⁶. In früheren Arbeiten berichtete Mossel⁶, daß Hefeextrakt-Glucose-Agar ein besserer Basisnährboden war als 'Mycophil Agar', der durch Sharf⁸ empfohlen wurde. Durch den Zusatz von Oxytetracyclin wird der Hefeextrakt-Glucose-Agar selektiver als der 'Mycophil Agar', da das Wachstums von Lactobazillen gehemmt wird, die bei dem niedrigen pH-Wert des letzteren wachsen können.

Die Wahl eines geeigneten Nährbodens zur Koloniezahlbestimmung von Hefen und Schimmelpilzen ist hauptsächlich von der Beschaffenheit des zu untersuchenden Lebensmittels und von den zu erwartenden Keimen abhängig⁹. Hefeextrakt-Glucose-Oxytetracyclin-Selektivnährboden bleibt bakteriostatisch, wenn er mit nicht mehr als 1 ml einer 10⁻¹-Verdünnung beimpft wird und nachfolgend nicht länger als fünf Tage bei 25°C bebrütet wird, wie es in der Lebensmittelmykologie allgemein üblich ist⁴. Sehr eiweißreiche Lebensmittel und eine höhere Bebrütungstemperatur (um 36°C) inaktivieren Oxytetracyclin; grampositive und gramnegative Bakterien können wachsen. In diesem Fall wird empfohlen, Hefeextrakt-Glucose-Chloramphenicol-Selektivnährboden, Bengalrot-Chloramphenicol-Selektivnährboden (OXOID, Art.-Nr. CM 549 + SR 78) oder Dichloran-Glycerol-(DG 18)-Selektivnährboden (OXOID, Art.-Nr. CM 729 + SR 78) einzusetzen.

Kulturverfahren

Die Hefeextrakt-Glucose-Antibiotika-Selektivnährböden werden im Gußplattenverfahren angewandt.

1. Zur mykologischen Untersuchung die Proben zuerst mit einer geeigneten Menge Ringer-Lösung (OXOID, Art.-Nr. BR 52) oder Kochsalz-Pepton-Lösung (Maximal-Wiederbelebungslösung, OXOID Art.-Nr. CM 733) verdünnen. Zur weiteren Untersuchung diejenigen Verdünnungen einsetzen, die erfahrungsgemäß 50-100 Kolonien je Platte ergeben.
2. Von den Verdünnungen jeweils 1 ml in eine sterile Petrischale geben und etwa 15 ml sterilen, auf 45-50°C abgekühlten Hefeextrakt-Glucose-Antibiotika-

- Selektivnährboden zugeben. Vorsichtig mischen und je Verdünnungsstufe zwei Platten anlegen.
3. 5 Tage bei $25 \pm 2^\circ\text{C}$ mit dem Deckel nach unten bebrühen. Nach 2 Tagen die Bildung von Luftmycel kontrollieren.
 4. Hefe- und Schimmelpilzkolonien der Platten mit 50-100 Kolonien je Platte nach 5 Tagen oder jede zählbare Platte, wenn zu erwarten ist, daß Luftmycelien eine weitere Zählung nach 2 Tagen verhindern. Die gezählten Kolonien jeder Verdünnung sollten auf beiden Platten übereinstimmen.
 5. Die Anzahl der Hefen oder Schimmelpilze je g oder ml Lebensmittel berechnen, indem die Anzahl der Kolonien mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert wird.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

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

Supplement: $2-8^\circ\text{C}$.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Aspergillus niger ATCC 9642

Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763

Negativkontrolle

Escherichia coli ATCC 25922

Zusätzliche Hinweise

Auf Hefeextrakt-Glucose-Oxytetracyclin-Selektivnährboden wird das Wachstum von 'Milchsäurebakterien' gehemmt, jedoch nicht das von Pseudomonaden.

Literatur

1. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMVG". L 01.00-37: "Bestimmung der Anzahl von Hefen und Schimmelpilzen in Milch und Milchprodukten." In anderen Lebensmitteln: L 02.00-10, L 20.01-7 und L 48.01-14.
2. DIN 10186: "Mikrobiologische Milchuntersuchung. Bestimmung der Anzahl von Hefen und Schimmelpilzen. Referenzverfahren."
3. Mossel, D.A.A., Harewijn, G.A. und Elzebroek, J.M. (1973) UNICEF.
4. Mossel, D.A.A. et al. (1970) J. Appl. Bacteriol. 33, 454-457.
5. Mossel, D.A.A., Visser M. und Mengerink, W.H.J. (1962) Lab. Prac. II, 109-112.
6. Koburger, J.A. und Mace, F.E. (1967) Proc. W. Va. Acad. Sci. 39, 102-106.
7. Mossel, D.A.A. (1951) A. v. Leeuwenhoek 17, 146.
8. Sharf, J.M. (1960) Ann. Inst. Pasteur, Lille II, 117.
9. Mossel, D.A.A., Vega, Clara L. und Put, H.M.C. (1975) J. Appl. Bacteriol. 39, 15-22.