

### Kristallviolett-Galle-Lactose-Agar mit MUG

(VRB-Agar mit MUG)

Art.-Nr. CM 978

Fluorogener Nährboden zum Nachweis von *Escherichia coli* und coliformen Keimen.

Der Nährboden entspricht der Methode nach FDA/BAM 8<sup>th</sup> Ed., 1995<sup>1</sup> und wird von Baumgart zum Nachweis von *E. coli* und coliformen Keimen ohne Wiederbelebungsschrittempfohlen<sup>2</sup>.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Hefeextrakt	3,0
Pepton	7,0
Natriumchlorid	5,0
Gallensalze Nr. 3	1,5
Lactose	10,0
Neutralrot	0,03
Kristallviolett	0,002
Agar	12,0
4-Methylumbelliferyl- $\beta$ -D-Glucuronid (MUG)	0,1
pH 7,4 $\pm$ 0,2	

#### Zubereitung

38,6 g in 1 Liter Aqua dest. suspendieren und bis zum Siedepunkt vorsichtig unter Rühren erhitzen. NICHT AUTO-KLAVIEREN! Gut mischen und in Petrischalen gießen.

#### Beschreibung

Kristallviolett-Galle-Lactose-Agar mit MUG beinhaltet Lactose als Kohlenhydratquelle und ermöglicht die Unterscheidung coliformer Keime, die schnell Lactose verwerten können, von nicht Lactose-fermentierenden, gramnegativen Bakterien. Der Zusatz des fluorogenen Substrates MUG erlaubt die zusätzliche, präsumtive Identifi-

zierung von *E. coli* anhand seiner positiven  $\beta$ -Glucuronidase-Reaktion<sup>3</sup>. Coliforme Keime sind in der Regel MUG-negativ.

#### Kulturverfahren

25 g Probe in einem geeigneten Medium verdünnen und eine Verdünnungsreihe anlegen. Pro Petrischale 1 ml verdünnte Probe vorlegen und mit 10 ml VRB-Agar (OXOID, Art.-Nr. CM 107) auffüllen. Die Gußplatten mit 5 ml VRB-Agar mit MUG (OXOID, Art.-Nr. CM 978) überschichten und 24 Stunden bei 35-37°C bebrüten.

Als coliforme Keime werden alle typisch dunkelrot erscheinenden Kolonien (0,5 mm oder größer) gewertet, die von einem Präzipitationshof umgeben sind. Eine Bestätigung erfolgt durch Überimpfen in Laurylsulfat-Tryptose-Lösung mit Durham-Röhrchen (OXOID, Art.-Nr. CM 451) und Prüfung der Gasbildung nach Bebrütung für 24 Stunden bei 30 °C. Bleibt die Gasbildung aus, muß weitere 24 Stunden inkubiert werden. Röhrchen mit positiver Gasbildung werden als Nachweis coliformer Keime gewertet.

Kolonien, die unter UV-Licht (360-366 nm) blau fluoreszieren, werden als präsumtive *E. coli* gezählt. Eine biochemische Bestätigung sollte nach Reinzüchtung auf Plate-Count-Agar (OXOID, Art.-Nr. CM 325) erfolgen.

#### Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25 °C.

Haltbarkeit: siehe Etikett

#### Qualitätskontrolle

Positivkontrolle:

*Escherichia coli* ATCC 25922

Negativkontrolle:

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

#### Literatur

1. "Association of Official Analytical Chemists" F.D.A. Bacteriological Analytical Manual. 8<sup>th</sup> Edition (1995) AOAC, Arlington Va.
2. Baumgart, J. (1994) Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln, 2. Erg.-Lfg. 11/96, III.2 S. 5-6
3. Frampton, E.W. and Restaino, L. (1993). Appl. Bact. 74, 223-233.