

### Lactose-Pepton-Lösung

Art.-Nr. CM 931

Zur Anreicherung und zum Nachweis von *Escherichia coli* und coliformen Keimen. Der Nährboden entspricht der DIN 38411<sup>1</sup> und dem § 35 LMBG<sup>2</sup>.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Caseinpepton	17,0
Sojamehlpepton	3,0
Lactose	10,0
Natriumchlorid	5,0
Bromkresolpurpur	0,02
pH 7,3 ± 0,2	

#### Zubereitung

35 g (für einfachkonzentrierte Lösung) bzw. 70 g (für doppelkonzentrierte Lösung) oder 105 g (für dreifachkonzentrierte Lösung) Lactose-Pepton-Lösung in 1 l Aqua dest. suspendieren, bis zum vollständigen Lösen erhitzen und in entsprechende Glasgefäße, die mit Durham-Röhrchen beschildert sind, abfüllen. 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren. Die Durham-Röhrchen dürfen danach keine Luftblasen mehr enthalten.

#### Beschreibung

Als „coliforme Keime“ werden diejenigen Bakterien aus der Familie *Enterobacteriaceae* bezeichnet, die bei 36 ± 1°C Lactose unter Gasbildung vergären können; sie gehören überwiegend den Gattungen *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* und *Klebsiella* an.

Die Lactose-Pepton-Lösung dient zur Anreicherung und Titerbestimmung von *Escherichia coli* und coliformen Keimen im Rahmen der bakteriologischen Wasseruntersuchung. Ihre Zusammensetzung wurde der DIN 38411 und dem § 35 L 59.00-1 angeglichen. Aufgrund der neuen Zusammensetzung wurde auch die Artikel-Nummer dieses Produktes geändert (früher OXOID, Art.-Nr. CM 427 – jetzt Art.-Nr. CM 931).

#### Kulturverfahren nach DEV (DIN 38411)<sup>1</sup>

Die Verfahren sind anwendbar auf die Untersuchung von aufbereitetem Schwimm- und Badebeckenwasser.

Die Gesamtuntersuchung gliedert sich in drei Teilschritte:

a) Anzüchten der Primärkultur

Zur Anzüchtung der Primärkulturen stehen zwei Verfahren zur Verfügung:

- Nachweis durch Flüssigkeitsanreicherung
- Nachweis durch Membranfilterverfahren

b) Anzüchten der Subkultur, um Reinkulturen zu gewinnen

c) Identifizierung der gewonnenen Reinkulturen

#### a) Anzüchten der Primärkultur

Nachweis durch Flüssiganreicherung:

100 ml des zu untersuchenden Wassers unter sterilen Bedingungen in ein geeignetes Glasgefäß, das 50 ml drei-

fachkonzentrierte oder 100 ml doppelkonzentrierte Lactose-Pepton-Lösung enthält, füllen.

Bei Einsatz größerer Probenvolumina die Zusatzvolumina entsprechend erhöhen.

Prüfen von kleinen Wasservolumina:

In ein Kulturröhrchen, das 5 ml dreifachkonzentrierte Lactose-Pepton-Lösung enthält, 10 ml Wasserprobe geben und in ein zweites Kulturröhrchen, das 5 ml einfachkonzentrierte Lactose-Pepton-Lösung enthält, 1 ml Wasserprobe geben.

Bei einem Wasservolumen unter 1 ml die Probe unter sterilen Bedingungen mit sterilem Wasser im Volumenverhältnis 1:10, 1:100 usw. verdünnen. Von den Verdünnungen je 1 ml in Kulturröhrchen, die je 5 ml einfachkonzentrierte Lactose-Pepton-Lösung enthalten, geben.

Nachweis durch Membranfilter-Verfahren:

100 ml des zu untersuchenden Wassers, bei belasteten Wässern weniger, durch ein Membranfilter von 0,45 µm Porenweite filtrieren. Den Membranfilter mit einer sterilen Pinzette in 50 ml einfachkonzentrierte Lactose-Pepton-Lösung einbringen, wobei das Membranfilter gänzlich von der Lösung bedeckt sein muß. Die Flaschen und Kulturröhrchen anschließend 24 ± 4 Stunden bzw. bei negativem Ergebnis bis zu 44 ± 4 Stunden bei 36 ± 1°C bebrüten. Zeigt die Anreicherungskultur nach 24 bzw. 44 Stunden Bakterienwachstum (Farbumschlag und Gasbildung) sollten Reinkulturen zur weiteren Differenzierung isoliert werden. Auch bei einem nicht eindeutigen Befund, z.B. unsichere Gasbildung, Farbumschlag positiv, muß zur Differenzierung weiter untersucht werden.

Beim Wachstum Lactose-positiver Keime schlägt die violette Farbe der Lösung nach gelb um, die Gasbildung ist im Durham-Röhrchen abzulesen.

### **b) Anzüchten der Subkultur, um Reinkulturen zu gewinnen**

Aus den Primärkulturen eine kleine Menge Kulturflüssigkeit entnehmen und fraktioniert auf Endo-Nährboden (OXOID, Art.-Nr. CM 479 und BR 50) oder MacConkey-Nährboden Nr. 3 (OXOID, Art.-Nr. CM 115) ausstreichen. Anschließend 24 ± 4 Stunden bzw. 44 ± 4 Stunden bei 36 ± 1°C bebrüten.

### **c) Identifizierung der gewonnenen Reinkulturen**

Von allen Kolonieförmungen (als typisch gelten rote, metallisch glänzende Kolonien auf dem Endo-Nährboden bzw. rote bis rosarote auf dem MacConkey-Nährboden Nr. 3) mindestens drei einzeln gewachsene Kolonien abimpfen und in jeweils einem Kulturröhrchen Tryptophan-Bouillon suspendieren und 3-6 Stunden bei 36 ± 1°C bebrüten. Von dieser Flüssigkultur ausgehend sind Oxidase-Reaktion, Indolbildung, Citratverwertung, Glucosespaltung, Gasbildung aus Mannit sowie Lactosespaltung zu prüfen.

Als Ergebnis wird angegeben, aus welchem Wasservolumen der Nachweis von *E. coli* bzw. coliformen Keimen erbracht bzw. nicht erbracht wurde.

### **Lagerung und Haltbarkeit**

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25 °C.

Haltbarkeit: siehe Etikett

### **Qualitätskontrolle**

Positivkontrolle

*Escherichia coli* ATCC 25922

Negativkontrolle

*Enterococcus faecalis* ATCC 19433

### **Literatur**

1. DIN 38411: „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K). Nachweis von *Escherichia coli* und coliformen Keimen (K 6).“
2. BGA: „Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG.“ L59.00-1: „Nachweis von *Escherichia coli* und coliformen Keimen in natürlichen Mineralwasser, Quell- und Tafelwasser, Referenzverfahren.“