

Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung

Art.-Nr. CM 451

Zum Nachweis und zur Koloniezahlbestimmung coliformer Keime aus Wasser und Abwasser, Lebensmitteln und Molkereiprodukten.

Der Nährboden entspricht der DIN 10172¹ und dem § 35 LMBG².

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Tryptose	20,0
Lactose	5,0
Natriumchlorid	5,0
Dikaliumhydrogenphosphat	2,75
Kaliumdihydrogenphosphat	2,75
Natriumlaurylsulfat	0,1
pH 6,8 ± 0,2	

Zubereitung

35,6 g Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung in 1 l Aqua dest. lösen und jeweils 10 ml auf Röhrchen mit Durham-Röhrchen verteilen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren.

Beschreibung

Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung wird zum Nachweis und zur Koloniezahlbestimmung coliformer Keime aus Wasser und Milchprodukten, besonders bei der Kontrolle der Eiscremeherstellung und in der Molkereihygiene empfohlen. Die APHA empfiehlt Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung für den 'Mean Probable Number Presumptive Test' von Coliformen aus Wasser und Abwasser³, als einen Bestätigungsnachweis der Lactose-Verwertung mit Gasbildung aus Milchproben⁴ und zum Nachweis von Coliformen aus Lebensmitteln⁵. Die Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung wird vom § 35 LMBG für die Bestimmung der Koloniezahl in Milch und Milchprodukten nach der MPN-Methode vorgegeben².

Oberflächenaktive Agenzien wurden schon lange als inhibitorische Zusätze in Selektivnährböden verwendet. Zu diesem Zweck führte MacConkey⁶ Gallensalze ein; später entdeckten Albus und Holm⁷ bei Arbeiten über Lactobazillen die selektive Wirkung von Natriumricinoleat. Die Entwicklung synthetischer benetzender Agenzien leitete neue Forschungen ein. Mallmann und Darby⁸ zeigten nach vergleichenden Untersuchungen mit einer großen Anzahl dieser Komponenten, daß Natriumlaurylsulfat die besten Ergebnisse bei Selektivnährböden für die coliforme Gruppe aufwies.

Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung wurde speziell entwickelt, um üppiges Wachstum und reichliche Gasbildung

bei kleinen Inokula mit coliformen Keimen zu liefern. Das Wachstum aerober Sporenbildner wird vollständig gehemmt. Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung hat den Vorteil, daß zusätzlich zu den typischen Reaktionen der MacConkey-Lösung hier direkt auf Anwesenheit von Indol getestet werden kann. Im Gegensatz zur MacConkey-Lösung enthält diese Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung keinen Indikator; er kann bei Bedarf nach der Bebrütung zugesetzt werden.

Kulturverfahren nach § 35 LMBG² (MPN-Methode)⁵

Zur Bestimmung der coliformen Keime in Milch, Milchprodukten, Butter, Käse oder Speiseeis die entsprechend vorbereiteten Proben in mindestens drei Verdünnungsstufen (z.B. 3 x 1,0; 3 x 0,1; 3 x 0,01 g bzw. ml) in je drei Parallelröhrchen ansetzen.

Die Röhrchen 48 ± 2 Stunden bei 30°C bebrüten und nach Ermittlung der Index-Ziffern mit Hilfe der MPN-Tabellen für Verdünnungsreihen mit dreifachem Ansatz auswerten.

Kulturverfahren nach APHA³⁻⁵

Einzelheiten der Standardmethoden nach APHA sind der angegebenen Literatur zu entnehmen.

Kulturverfahren nach Dyett⁹

1. Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung so beimpfen, wie dies normalerweise für den MacConkey-Test erfolgt.
2. Die Röhrchen nach einer Bebrütung über Nacht bei 36°C begutachten. Ist keine Gasbildung sichtbar, am Ende der gesamten Bebrütung über 48 Stunden erneut begutachten.
3. Aus jedem Röhrchen, das Fermentation zeigt ('Primärfermentation') zwei weitere Röhrchen Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung beimpfen. Ein Röhrchen bei 36°C, das andere bei 44°C bebrüten. Das Röhrchen, das bei 44°C bebrütet wird, sollte vor der Beimpfung im Wasserbad (44°C) vorgewärmt werden.
4. Wenn in dem Röhrchen, das bei 44°C bebrütet wird, nach sieben Stunden Gasbildung sichtbar ist, mit Ehrlich- oder Kovács-Reagenz auf Indolbildung testen. Wird die Kultur geschüttelt, so verursacht das Laurylsulfat eine bleibende Emulsion. Dies kann durch Ausschütteln mit Äther, der sich rasch abtrennt, verhindert werden. Das Kovács-Reagenz dann zur oberen Phase ohne weiteres Schütteln zugeben (Rezepturen der Ehrlich- und Kovács-Reagenzien siehe Caseinpeptonwasser, Art.-Nr. CM 87).
5. Wenn nach sieben Stunden Bebrütung bei 44°C keine Gasbildung auftritt, über Nacht bei 44°C weiter bebrüten und am folgenden Tag ablesen.

Eine positive Indol-Reaktion und Gasbildung bei 44°C Bebrütung zeigen die Anwesenheit von *Escherichia coli* an.

Die Bebrütung bei 36°C erfolgt über 24 Stunden. Wenn keine Fermentation zu beobachten ist, wird angenommen, daß die Primärfermentation durch andere Keime als Coliforme hervorgerufen wurde. Falsch-positive Primärfermentations-Röhrchen sind nicht ungewöhnlich, da die z.B. in Eiscreme enthaltene Saccharose durch andere

Keime als Coliforme verwertet werden kann.

Nach der Beimpfung der beiden Röhrrchen zur Sekundärfermentation mit dem Primärfermentations-Röhrrchen, das direkt mit Eiscreme beimpft wurde, die Indol-Reaktion durchführen.

Eine positive Reaktion zeigt präsumtive *Escherichia coli* an; die Bestätigung erfolgt mit der Sekundärfermentation bei einer Bebrütung bei 44°C. Eine negative Indol-Reaktion im Primärfermentations-Röhrrchen zeigt die Abwesenheit von *E. coli* an.

MUG-Supplement (OXOID, Art.-Nr. BR 71) kann zum Nachweis von *Escherichia coli* zugesetzt werden. Es enthält 4-Methylumbelliferyl- β -D-glucuronid (MUG) in gefriergetrockneter Form. Weitere Einzelheiten siehe Kapitel 'Biochemische Reagenzien'.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Escherichia coli ATCC 25922

Enterobacter aerogenes ATCC 13048

Negativkontrolle

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Zusätzliche Hinweise

Wenn Laurylsulfat-Tryptose-Lactose-Lösung bei 2-8°C gelagert wird, wird sie leicht trüb oder es kann sich ein Präzipitat bilden. Die Lösung sollte bei Raumtemperatur aufklaren; Kriterium ist die Gasbildung, nicht die Trübung.

Literatur

1. DIN 10172: "Mikrobiologische Milchuntersuchung. Bestimmung der coliformen Keime. Verfahren mit flüssigen Medien."
2. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG." L 01.00-2: "Bestimmung der coliformen Keime in Milch, Milchprodukten, Butter, Käse und Speiseeis".
3. APHA (1981) American Water Works Association and Water Pollution Federation: "Standard methods for the examination of water and wastewater". 15th Edn., Washington, D.C.
4. APHA (1984) "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". 2nd Edn., Washington, D.C.
5. APHA (1985) "Standard Methods for the Examination of Dairy Products". 15th Edn., Washington, D.C.
6. MacConkey, A.T. (1938) J. Hyg. 8, 322-334.
7. Albus, W.R. und Holm, G.E. (1926) J. Bacteriol. 12, 13-18.
8. Mallmann, W.L. und Darby, C.W. (1941) Am. J. Pub. Health 31, 127-134.
9. Dyett, E.J. (1957) Lab. Prac. 6(6), 327-328.