

## Laurylsulfat-Tryptose-Lösung mit MUG und Tryptophan

Art.-Nr. CM 967

Nährlösung zum Nachweis coliformer Bakterien in Milch und Milchprodukten sowie präsumtiver *E. coli*. Das Medium entspricht der ISO 11866-2<sup>1</sup> und dem §35 LMBG L 01.00-54<sup>2</sup>.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Tryptose	20,0
Lactose	5,0
Dikaliumhydrogenphosphat	2,75
Natriumdihydrogenphosphat	2,75
Natriumchlorid	5,0
Natriumlaurylsulfat	0,1
4-Methylumbelliferyl-β-D-Glucuronid (MUG)	0,1
Tryptophan	1,0
pH 6,8 ± 0,2	

### Zubereitung

Für eine einfach konzentrierte Lösung 36,7 g in 1 Liter Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen vorsichtig erwärmen.

Für eine doppelt konzentrierte Lösung 73,4 g in 1 Liter Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen vorsichtig erwärmen.

Die Lösung in geeignete Endgefäße mit Durham-Röhrchen abfüllen und diese 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren.

### Beschreibung

Die Laurylsulfat-Tryptose-Lösung mit MUG und Tryptophan erlaubt die Anwendung der MPN-Methode zum Nachweis coliformer Keime und gleichzeitiger Bestimmung präsumtiver *E. coli* aus Milch und Milchprodukten in einem MUG-haltigen, flüssigen Nährboden. Diese Methode ist in der ISO 11866-2<sup>1</sup> und im § 35 LMBG L 01.00-54 (Dezember 1992)<sup>2</sup> beschrieben.

Der Nährboden enthält 4-Methylumbelliferyl-β-D-Glucuronid (MUG), welches durch β-Glucuronidase gespalten wird und 4-Methylumbelliferon freisetzt. Diese Fluorophor zeigt unter langwelligem UV-Licht (360-366 nm) eine blau-grüne Fluoreszenz. Tryptophan dient als Substrat zur Bildung von Indol. Beide Reaktionen, die Hydrolyse von MUG wie auch die Bildung von Indol, sind für *E. coli* charakteristisch und können daher zum präsumtiven Nachweis dieses Bakteriums herangezogen werden.

Coliforme Bakterien fermentieren Lactose unter Gasbildung, einer Reaktion, die als Nachweiskriterium coliformer Keime herangezogen wird. Natriumlaurylsulfat dient zur Hemmung grampositiver Bakterien.

### Kulturverfahren

MPN-Methode (§ 35 LMBG)<sup>2</sup>

Je nach Art der Probe mindestens 10 ml oder 10 g Probe mit der 9-fachen Menge Verdünnungsflüssigkeit mischen. Von der flüssigen bzw. verflüssigten Probe werden dezimale Verdünnungsstufen hergestellt. Je Verdünnungsstufe werden 3 Röhrchen mit Laurylsulfat-Tryptose-Lösung mit MUG und Tryptophan - in einfacher bzw.

## Nährböden

---

doppelt konzentrierter Form - beimpft. Nach Bebrütung für 24-48 Stunden bei 30°C werden alle Röhrrchen auf Trübung und Gasbildung geprüft. Das Auftreten einer Gasbildung (deutliche Gasblase im Durham-Röhrrchen) gilt als Nachweis coliformer Keime. Der Nachweis der Fluoreszenz erfolgt unter langwelligem Licht bei 360-366 nm. Es kann erforderlich sein, den pH-Wert der Lösung durch Zugabe von Natronlauge (z.B. 0,5 ml einer 0,5 M Natronlauge) zu jedem Röhrrchen zu erhöhen. Ein zu niedriger pH-Wert verhindert das Fluoreszieren der Lösung. Fluoreszenz bei 360-366 nm sowie der Nachweis der Indolbildung nach Zugabe von Kovacs-Reagenz gilt als präsumtiver Nachweis von *E. coli*.

Aus der Anzahl der positiven Röhrrchen wird anhand der MPN-Tabellen die Anzahl von *E. coli* bzw. coliformen Keimen je ml oder g bestimmt.

### Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett

### Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

*Escherichia coli* ATCC 25922

Negativkontrolle:

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

*Enterobacter aerogenes* ATCC 13048\*

\*MUG-negativ

### Literatur

1. ISO 11866-2: „Milch und Milchprodukte - Zählung präsumtiver *Escherichia coli* - Teil 2: Technik der wahrscheinlichsten Anzahl unter Verwendung von 4-Methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronid (MUG)“
2. BGA. „Amtl. Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG“. L01.00-54: „Bestimmung von *E. coli* und coliformen Keimen in Milch und Milchprodukten. Fluoreszenzoptisches Verfahren mit paralleler Bestimmung coliformer Keime.“ Dezember 1992.