

Peptonwasser, gepuffert

Art.-Nr. CM 509

Zur Voranreicherung von Bakterien, insbesondere von *Enterobacteriaceae* aus Lebensmitteln und anderem Untersuchungsmaterial. Der Nährboden entspricht der ISO¹, der DIN EN 12824² und DIN 38414 (DEV)³ sowie der Eiprodukte-Verordnung⁴ und dem § 35 LMBG⁵.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Pepton	10,0
Natriumchlorid	5,0
Dinatriumhydrogenphosphat	3,5
Kaliumdihydrogenphosphat	1,5
pH	7,2 ± 0,2

Zubereitung

20 g Peptonwasser, gepuffert in 1 l Aqua dest. lösen, gut mischen und auf Gefäße verteilen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren.

Beschreibung

Für den Nachweis von Salmonellen ist nach § 35 LMBG gepuffertes Peptonwasser für die Voranreicherung vor der selektiven Anreicherung vorgegeben⁵. Sein Nährstoffangebot ermöglicht eine hohe Wiederbelebungsrate von Zellen, die z. B. während der Lebensmittelkonservierung subletal geschädigt wurden. Edel und Kampelmacher⁶ wiesen darauf hin, daß eine derartige subletale Schädigung von Salmonellen bei der Lebensmittelverarbeitung vielfältige Ursachen haben kann. In einer Vergleichsuntersuchung zur Isolierung von Salmonellen aus Fleisch, das im Labor mit geschädigten Keimen kontaminiert wurde, ergab die Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser (36°C, 18 Stunden) vor der Selektion in Brillantgrün-Tetrathionat-Galle-Bouillon im Vergleich mit einer direkten Selektion bessere Ergebnisse.

Nach Pietzsch⁷ verbessert sich auch die Isolierung von Salmonellen aus Eiern durch eine Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser (36°C, 18 Stunden) beträcht-

lich. 10 ml der Voranreicherungskultur wurden dabei anschließend in 100 ml Selenit-Cystin-Lösung (OXOID, Art.-Nr. CM 699) oder Tetrathionat-Bouillon nach Muller-Kauffmann, mod. (OXOID, Art.-Nr. CM 343) bebrütet (43°C, 18 Stunden).

Sadovski⁸ berichtete von Untersuchungen zur Isolierung von Salmonellen aus Tiefkühlgemüse, bei denen der rapide pH-Abfall bei der Voranreicherung in Lactose-Bouillon⁹ die Wiederauffindungsraten von Salmonellen stark verringerte. Kältegeschädigte Salmonellen aus tiefgekühltem Gemüse weisen eine verstärkte Sensitivität gegenüber niedrigen pH-Werten auf. Eine Voranreicherung in gepuffertem Peptonwasser kann während der 24stündigen Inkubation den erforderlichen pH-Wert aufrechterhalten. Die niedrige Pufferkapazität des Gemüsegewebes wird dabei durch das gepufferte Peptonwasser kompensiert. Bei stark kontaminiertem Untersuchungsmaterial wurde die Anreicherungszeit auf sechs Stunden verkürzt¹⁰; dabei empfiehlt sich besonders der Zusatz von Malachitgrün (0,1 g/l), wenn nur wenige Salmonellen vorhanden sind und deren Generationszeiten durch das kompetitive Wachstum der Begleitflora verlängert sind, so daß nicht die für eine erfolgreiche Isolierung erforderliche minimale Keimzahl erreicht wird.

Kulturverfahren

Isolierung von Salmonellen nach APHA¹¹

1. 10 g Untersuchungsmaterial zu 50 ml gepuffertem Peptonwasser geben und gründlich mischen.
2. 18 Stunden bei 36°C bebrüten.
3. 10 ml dieser Voranreicherung zu 100 ml Tetrathionat-Lösung, mod. (Muller-Kauffmann-Lösung, OXOID Art.-Nr. CM 343) geben.
4. Bei 42°C bebrüten.
5. Nach jeweils 24 und 48 Stunden Subkulturen auf Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar USP (OXOID, Art.-Nr. 263) oder auf Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar, mod. (OXOID, Art.-Nr. CM 329) anlegen.
6. Platten 18 Stunden bei 36°C bebrüten.
7. Platten auf Salmonellen-Kolonien ablesen.

Nachweis von Salmonellen nach § 35 LMBG⁵

1. 25 g bzw. 25 ml Untersuchungsmaterial zu 225 ml gepuffertem Peptonwasser geben und gründlich mischen.
2. 16–20 Stunden bei 36°C bebrüten.
3. Anschließend zur selektiven Anreicherung 0,1 ml der Voranreicherung in 10 ml Rappaport-Vassiliadis (RV)-Anreicherungslösung (OXOID, Art.-Nr. CM 669) bei 42°C und 10 ml der Voranreicherung in 100 ml Selenit-Cystin-Lösung (OXOID, Art.-Nr. CM 699) bei 36°C 24–48 Stunden, mindestens aber 18 Stunden bebrüten.
4. Von jeder selektiven Anreicherung Material auf Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar, mod. (OXOID, Art.-Nr. CM 329) ausstreichen und einen zweiten Selektivnährboden wie z. B. Bismutsulfit-Agar, mod. (OXOID, Art.-Nr. CM 201) oder XLD-Agar (OXOID, Art.-Nr. CM 469) oder andere Nährböden beimpfen.
5. Salmonella-verdächtige Kolonien serologisch untersuchen.
6. Agglutinierende Kolonien auf Nähragar (OXOID "Lab-

Lemco"-Nähragar, Art.-Nr. CM 17) so ausstreichen, daß sich einzeln stehende Kolonien entwickeln können und 18–24 Stunden bei 36°C bebrüten.

7. Zur biochemischen Identifizierung Einzelkolonien der Salmonella-verdächtigen Reinkultur auf Dreizucker-Eisen-Agar (OXOID, Art.-Nr. CM 277), Harnstoff-Agar (Harnstoff-Pepton-Agar nach Christensen, OXOID Art.-Nr. CM 53) und einen Lysin-Decarboxylase-Nährboden überimpfen; 24 Stunden bei 36°C bebrüten und auswerten.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Salmonella typhimurium ATCC 14028

Negativkontrolle

unbeimpfte Lösung

Zusätzliche Hinweise

Wenn *Salmonella typhi* im Untersuchungsgut vermutet wird, sollte kein Malachitgrün zugesetzt werden.

Literatur

1. ISO 6579 "Microbiology - General guidance on methods for the detection of Salmonella."
2. DIN EN 12824 "Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln- Horizontales Verfahren zum Nachweis von Salmonellen"
3. DIN 38414: "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Schlamm und Sedimente (Gruppe S). Nachweis von Salmonellen in entseuchten Klärschlämmen (S. 13)."
4. Verordnung des Bundesministers für Gesundheit über die gesundheitlichen Anforderungen an Eiprodukte und deren Kennzeichnung (Eiprodukte-Verordnung) v. 19.2.1975, BGBl. I, 537.
5. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 00.00-20: "Nachweis von Salmonellen".
6. Edel, W. und Kampelmacher, E.H. (1973) Bull. Wld. Hlth. Org. 48, 167-174.
7. Pietzsch, O., Kretschmer, F.J. und Bulling, E. (1975) Zbl. Bakt. Abt. I. Orig. 232, 232-246
8. Sadovski, A.Y. (1977) J. Fd. Technol. 12, 85-91.
9. Angelotti, R. (1963) "Microbiological Quality of Foods". Academic Press, New York, 149.
10. van Schothorst, M. und Renaud, A.M. (1985) J. Appl. Bacteriol. 59, 223-230.
11. APHA (1976) "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". APHA Inc., Washington, D.C.