

Rogosa-Nährboden

Art.-Nr. CM 627

Zur selektiven Isolierung und Koloniezahlbestimmung von Lactobazillen.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Caseinpepton	10,0
Hefeextrakt	5,0
Glucose	20,0
„Tween“ 80	1 ml
Kaliumdihydrogenphosphat	6,0
Ammoniumcitrat	2,0
Natriumacetat, wasserfrei	17,0
Magnesiumsulfat	0,575
Mangan(II)-sulfat	0,12
Eisen(II)-sulfat	0,034
Agar	20,0
pH 5,4 ± 0,2	

Zubereitung

82 g Rogosa-Nährboden in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 1,32 ml 96%ige Essigsäure (Eisessig) zufügen und gut mischen. 2–3 Minuten unter Rühren auf 90–100°C erhitzen. NICHT AUTO-KLAVIEREN! Platten gießen.

Beschreibung

Rogosa-Nährboden ist eine Modifikation des von Rogosa et al.¹ beschriebenen Nährbodens zur selektiven Isolierung und Koloniezahlbestimmung von Lactobazillen. Der Nährboden zeigt exzellente Ergebnisse bei quantitativen und qualitativen Nachweisen von Lactobazillen aus Faeces, Speichel und Mundspülungen sowie aus Molke- und Reiprodukten. Rogosa-Nährboden stellt auch deshalb einen leistungsfähigen selektiven Nährboden für Lactobazillen dar, weil die hohe Acetat-Konzentration und der niedrige pH-Wert viele Stämme anderer „Milchsäurebakterien“ unterdrücken.

Wenn der pH-Wert des Nährbodens auf 6,2 eingestellt wird (ohne hinzugefügte Essigsäure) ändert sich die Selektivität des Nährbodens, so daß die gesamte Gruppe der 'Milchsäurebakterien' erfaßt wird^{2, 3}.

Kulturverfahren

Zur Isolierung von Lactobazillen empfiehlt Sharpe⁴, den Rogosa-Nährboden 3 Tage bei 36°C oder 5 Tage bei 30°C zu bebrüten. Die Bebrütung sollte in einer Atmosphäre mit 5% Kohlendioxid erfolgen. Dies verhindert Austrocknung und schafft die von Lactobazillen bevorzugten mikroaerophilen Bedingungen. Überdies zeigt Kohlendioxid eine wachstumsfördernde Wirkung auf Lactobazillen.

Die Bebrütung sollte im Anaerobiotopf (OXOID, Art.-Nr. AG 25 bzw. HP 11) mit dem CampyGen (OXOID, Art.-Nr. CN 25 bzw. CN 35) erfolgen.

Wenn nicht in mikroaerophiler Atmosphäre bebrütet werden kann, kann die beimpfte Platte alternativ mit einer zweiten Schicht Rogosa-Nährboden überschichtet werden (Overlay-Technik).

Bei Verdacht auf thermophile „Milchsäurebakterien“ sollte 48 Stunden bei 42°C bebrütet werden. Bei vermutlich psychrotrophen Keimen 2 Tage bei 30°C, danach einen

weiteren Tag bei 22°C bebrüten. *Leuconostoc* spp. aus Fleisch werden 3 Tage bei 25°C bebrütet.

Nach der Bebrütung können alle gut gewachsenen Kolonien als „Milchsäurebakterien“ angesehen werden; Enterokokken und Pediokokken zeigen reduziertes Wachstum. *Leuconostoc* spp. aus Fleisch können bei 25°C Schleim bilden.

Koloniemorphologie

Kleine, gräuliche bis weiße, flache oder erhabene, glatte oder rauhe Kolonien.

Lactobazillen oder andere 'Milchsäurebakterien': Ø 0,5–2,5 mm;

Enterokokken: Ø 0,5–1 mm;

keine 'Milchsäurebakterien': Ø >2,5 mm nach verlängerter Bebrütung bei Raumtemperatur.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Lactobacillus acidophilus ATCC 19992

Negativkontrolle

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Zusätzliche Hinweise

Lactobacillus carnis wächst nicht auf Rogosa-Nährboden. Vor einer weiteren Identifizierung sollte mit allen Kolonien eine Gramfärbung und ein Katalasetest durchgeführt werden.

Literatur

1. Rogosa, M., Mitchell, J.A. und Wiseman, R.F. (1951) J. Bacteriol. 62, 132-133.
2. Reuter, G. (1985) Int. J. Food Microbiol. 2, 55-68.
3. ISO/TC34/SC6/WG15 (1984) "Enumeration of Lactobacteriaceae in meat and meat products".
4. Sharpe, M. Elizabeth (1960) Lab. Practice 9, 223-227.