

Selenit-Cystin-Lösung-Basis

Art.-Nr. CM 699

Zur Anreicherung von Salmonellen aus Faeces, Lebensmitteln und anderen Materialien.

Der Nährboden entspricht der DIN EN 12824¹, dem § 35 LMBG² sowie der ISO 6579³.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Caseinpepton	5,0
Lactose	4,0
Dinatriumhydrogenphosphat	10,0
L-Cystin	0,01
pH 7,0 ± 0,2	

Zubereitung

4 g Natriumbiselenit (OXOID, Art.-Nr. LP 121) in 1 l Aqua dest. lösen. 19 g Selenit-Cystin-Lösung-Basis in der Selenit-Basislösung suspendieren, vorsichtig bis zum Lösen erhitzen und z. B. in Röhrchen mind. 5–6 cm hoch oder in andere Endgefäße zu jeweils 100 ml abfüllen. 10 Minuten im Dampftopf (100°C) halten. NICHT AUTOKLAVIEREN!

Beschreibung

Klett⁴ berichtete bereits 1900 als erster über die inhibitorische Wirkung von Selenit auf das mikrobielle Wachstum, was Guth⁵ 1916 für die Isolierung von *Salmonella typhi* nutzte und beschrieb. 20 Jahre später setzte Leifson⁶ einen Selenit-Nährboden ein und empfahl seine breite Anwendung. Der Mechanismus der toxischen Wirkung von Selen auf Bakterien ist noch nicht vollständig geklärt; es wird vermutet, daß Selen mit Schwefel- oder Sulfhydryl-Gruppen in den Zellen reagiert^{7, 8}. *Proteus* und *Pseudomonas* spp. scheinen dagegen resistent zu sein⁷. Lactose wird dem Nährboden als fermentierbarer Zucker zugesetzt, um ein Ansteigen des pH-Wertes während der Bebrütung zu vermeiden. Der Anstieg des pH-Wertes würde die Selektivität des Selenits vermindern. *Proteus* und *Pseudomonas* spp. verwerten Lactose nicht, was möglicherweise die fehlende Hemmung durch Selenit erklärt.

Es gibt eine Reihe von Modifikationen des von Leifson beschriebenen Nährbodens wie z. B. Ersatz der Lactose durch Mannit (siehe Selenit-Mannit-Lösung-Basis, OXOID Art.-Nr. CM 399) oder die Addition von Brillantgrün, Natriumtaurocholat, Sulfapyridin und Streptomycin. Dabei führten Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit dieser Modifikationen nicht immer zu übereinstimmenden Ergebnissen⁹.

Die Selenit-Cystin-Lösung ist durch die Zugabe von Cystin¹⁰ eine weitere Modifikation der Rezeptur von Leifson⁶, die in einer Reihe von Untersuchungen sehr gute Resultate zeigte¹¹. Der Effekt des Cystins liegt in seinem Reduktionsvermögen, das die Toxizität des Selens für Bak-

Nährböden

terien vermindert. Auch kann der Schwefel im Cystin auf manche bakterielle Schwefelverbindungen schonend wirken und sie damit in gewisser Weise vor dem selektiven Effekt des Selenits schützen.

Selen-Cystin-Lösung wird zur Anreicherung von Salmonellen aus Faeces, Lebensmitteln und anderem Untersuchungsmaterial verwendet.

Kulturverfahren

Für Routineuntersuchungen Selenit-Flüssigkulturen 18–24 Stunden bei 36°C bebrüten und dann auf Enterobacteriaceae-Nährböden höherer oder geringerer Selektivität subkultivieren. Das Wachstum von *Escherichia coli* und *Proteus* spp. wird in Selenit-Nährböden nicht unbeschränkt gehemmt. Wenn der Anteil dieser Keime im Untersuchungsmaterial relativ hoch ist, ist es vorteilhaft, bereits nach 6 bzw. 18 Stunden auf feste Nährböden zu subkultivieren.

Wenn das Untersuchungsmaterial einen hohen Anteil fester Bestandteile enthält, kann die selektive Wirkung des Selenits insbesondere bei Faeces und Eipulver stark vermindert sein. Es ist deshalb allgemeine Praxis, derartige Proben zu zerkleinern, in steriler phys. Kochsalz-Lösung zu suspendieren, die groben Partikel absetzen zu lassen und den Nährboden mit dem Überstand zu beimpfen. Alternativ kann wie folgt verfahren werden:

2–3 g mit 15 ml phys. Kochsalz-Lösung in einer Weithals-Flasche suspendieren und die festen Bestandteile mit einem Wattebausch entfernen, der langsam durch die Suspension geführt wird. Anschließend 1 ml des Überstandes in 15 ml Selenit-Lösung geben.

Harvey et al.^{12, 13} zeigten, daß eine Bebrütung bei 43°C die Isolierung von *Salmonella paratyphi* B erleichtert. Sie empfahlen die Bebrütung bei 43°C auch für die Untersuchung von Fluß- und Abwasser, weil dieses Untersuchungsmaterial eine große Anzahl anderer Bakterien enthält, die vorzugsweise bei tieferen Temperaturen wachsen. Die Autoren betonten, daß diese Methodik für die Isolierung von Salmonellen mit Ausnahme von *Salmonella typhi* besonders geeignet ist.

Für die Untersuchung von Urin sollte die Selenit-Lösung doppelt konzentriert verwendet und im Verhältnis 1:1 beimpft werden. Bei der Verwendung der Selenit-Cystin-Lösung sollte allgemein der Anteil des Untersuchungsmaterials 10–20% nicht übersteigen (1–2 g je 10–15 ml). Festes Material wird zu einer normal konzentrierten Lösung gegeben. Flüssige Proben werden mit doppelt konzentrierter Lösung im Verhältnis 1:1 gemischt und 12–24 Stunden bei 36°C bebrütet.

Kulturverfahren zur Anreicherung und Identifizierung von Salmonellen nach § 35 LMBG siehe Peptonwasser, gepuffert (OXOID, Art.-Nr. CM 509).

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden und Natriumbiselenit:
Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25°C.
Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Salmonella typhimurium ATCC 14028
Salmonella enteritidis ATCC 13076

Negativkontrolle

Escherichia coli ATCC 25922

Zusätzliche Hinweise

Natriumbiselenit ist als "sehr giftig" eingestuft und sehr sorgfältig zu handhaben. Thompson¹⁴ berichtete über Fehlgeburten und mögliche teratogene Effekte bei Schwangeren, die durch Einwirkung von Selenit verursacht sein könnten. Aufgrund dieser Arbeit ist die Substanz aus der OXOID Rezeptur entfernt worden und wird den Selenit-Lösungen nun separat zugesetzt.

Die Selenit-Lösung sollte verworfen werden, wenn reduziertes Selenit in Form roter Niederschläge auftritt.

Es sollte nicht länger als 24 Stunden bebrütet werden, da die selektive Wirkung des Selenits nach 6–12 Stunden Inkubation deutlich abnimmt¹⁵.

Material für Subkulturen sollte aus dem oberen Drittel des Kulturgefäßes entnommen werden, wobei die Höhe der Nährbodensäule im Röhrchen mindestens 5–6 cm betragen sollte.

Literatur

1. DIN EN 12824: "Horizontales Verfahren zum Nachweis von Salmonellen."
2. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 00.00-20: "Nachweis von Salmonellen".
3. ISO 6579 (1993) "Microbiology. General guidance on methods for the detection of Salmonella. Reference method."
4. Klett, A. (1900) Z. Hyg. Infekt. 33, 137-160.
5. Guth, F. (1916) Zbl. Bakt. I Orig. 77, 487-496.
6. Leifson, E. (1936) Am. J. Hyg. 24(2), 423-432.
7. Weiss, K.F., Ayres, J.C. und Kraft, A.A. (1965) J. Bact. 90, 857-862.
8. Rose, M.J., Enriki, N.K. und Alford, J.A. (1971) J. Food Sci. 36, 590-593.
9. Fagerberg, D.J. und Avens, J.S. (1976) J. Milk, Food Technol. 39, 628-646.
10. North, W.R. und Batram, M.T. (1953) Appl. Microbiol. 1, 130-134.
11. Fricker, C.R. (1987) J. Appl. Bact. 63, 99-116.
12. Harvey, R.W.S. und Scott, T. (1953) Mon. Bull. Min. Hlth. & PHLS 12, 149-150.
13. Harvey, R.W.S. und Price, T.H. (1979) Appl. Bact. 46, 27-56.
14. Thompson, S. (1970) Lancet i, 518-519.
15. Chattopadhyay, W. und Pilford, J.N. (1976) Med. Lab. Sci. 33, 191-194.