

### Yersinia-Selektivnährboden

(CIN-Agar nach Schiemann)

Zur Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Lebensmitteln und klinischem Untersuchungsmaterial. Der Nährboden entspricht dem Entwurf der EN ISO 10273<sup>1</sup>.

### Yersinia-Agar-Basis

Art.-Nr. CM 653

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Spezialpepton	20,0
Hefeextrakt	2,0
Mannit	20,0
Natriumpyruvat	2,0
Natriumchlorid	1,0
Magnesiumsulfat	0,01
Natriumdesoxycholat	0,5
Neutralrot	0,03
Kristallviolett	0,001
Agar	1,25
pH 7,4 ± 0,2	

### Yersinia-Selektiv-Supplement

Art.-Nr. SR 109

#### Zusammensetzung je Röhrchen

(1 Röhrchen je 500 ml)

Cefsulodin	7,5 mg
Irgasan	2,0 mg
Novobiocin	1,25 mg

#### Zubereitung

29 g Yersinia-Agar-Basis in 500 ml Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen. Zu einem Röhrchen Yersinia-Selektiv-Supplement aseptisch eine Mischung aus 2 ml sterilem Aqua dest. und 1 ml Ethanol geben. Den Inhalt unter vorsichtigem Schwenken lösen. Den gelösten Inhalt zu 500 ml steriler, abgekühlter Yersinia-Agar-Basis geben, vorsichtig mischen und Platten gießen.

#### Beschreibung

Yersinia-Selektivnährboden (CIN-Nährboden nach Schiemann, Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin) basiert auf einer Rezeptur von Schiemann<sup>2,3</sup> und wird zur Isolierung und Koloniezahlbestimmung von *Yersinia enterocolitica* aus klinischem Untersuchungsmaterial und Lebensmitteln empfohlen.

*Yersinia enterocolitica* wird in der medizinischen Fachliteratur immer häufiger als Erreger einer Enterocolitis beim Menschen erwähnt. Die Infektionen verursachen Diarrhöe, Übelkeit, Fieber und Bauchschmerzen, die oft Appendicitis-ähnlich sind, und über einen Zeitraum von 1-2 Tagen auftreten. *Yersinia enterocolitica* wurde ebenfalls als Erreger von Polyarthrit, mesenterischer Adenitis und Septikämie nachgewiesen.

Erst waren nur die Serotypen O:3 und O:9 bekannt; später wurden auch andere Serotypen, hauptsächlich O:5 und O:8 bei menschlichen Infektionen nachgewiesen<sup>4</sup>. Interessanterweise liegen Krankheitsfälle durch verschiedene Serotypen von *Yersinia enterocolitica* auch geographisch auseinander. Insgesamt kann man davon ausgehen, daß *Yersinia enterocolitica* durch den Einsatz dieses Selektivnährbodens mit höheren Isolierungsraten häufiger als bisher nachgewiesen werden kann.

Schiemann<sup>3</sup> modifizierte die Zusammensetzung des CIN-Nährbodens, indem er Gallensalze durch Natriumdesoxycholat (0,5 g/l) ersetzte und die Konzentration von Novobiocin von 15 auf 2,5 mg/l reduzierte, um eine Hemmung einiger Stämme des Serotyps O:8 zu vermeiden. Typische Kolonien von *Yersinia enterocolitica* erscheinen dunkelrot und haben das Aussehen von "Kuhaugen". Sie sind von einem klaren Hof umgeben; die Koloniegröße variiert je nach Serotyp. Die meisten anderen Keime, die auf dem Nährboden wachsen, bilden häufig größere Kolonien (Ø >2 mm) mit rosafarbenem Zentrum und opaken Zonen. *Serratia liquefaciens*, *Citrobacter freundii* und *Enterobacter agglomerans* zeigen eine ähnliche Koloniform wie *Yersinia enterocolitica*. Diese Keime können anhand ihrer biochemischen Reaktionen von *Yersinia enterocolitica* unterschieden werden.

Es sollten Wachstumstests auf Nähragar und MacConkey-Nährböden sowie biochemische und serologische Prüfungen durchgeführt werden, wobei hierbei 28°C statt 36°C empfohlen werden<sup>5,6</sup>.

#### Kulturverfahren

##### Direktausstrichverfahren

1. Yersinia-Selektivnährboden-Platten vortrocknen.
2. Platten mit einer Suspension des Lebensmittels von Faeces etc. so ausstreichen, daß Einzelkolonien entstehen können.
3. 24 Stunden bei 32°C bebrüten.

##### Kälteanreicherung<sup>7</sup>

1. Eine Tablette Salzlösung nach Dulbecco "A" (PBS, OXOID Art.-Nr. BR 14A) in 225 ml Aqua dest. lösen. Auf Endgefäße verteilen und 10 Minuten bei 115°C autoklavieren.
2. Die gepufferte Phosphatsalzlösung mit dem jeweiligen Untersuchungsmaterial beimpfen.
3. 21 Tage bei 4°C aufbewahren.
4. Nach 7, 14 sowie 21 Tagen Subkulturen auf Yersinia-Selektivnährboden anlegen.
5. 24-48 Stunden bei 28°C bebrüten.

#### Koloniemorphologie

##### *Yersinia enterocolitica*

Transparente, leicht erhabene Kolonien, mit rosa bis rotem Zentrum ("Kuhaugen"), Ø 1-2 mm nach 24 Stunden Bebrütung bei 28°C.

##### *Yersinia pseudotuberculosis*

Wächst gehemmter als *Y. enterocolitica*, u.U. als atypische, rauhe Kolonien.

#### Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Supplement: 2-8°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

## Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

*Yersinia enterocolitica* ATCC 27729

Negativkontrolle

*Escherichia coli* ATCC 25922

## Zusätzliche Hinweise

Einige Stämme von *Yersinia enterocolitica* können auf diesem Nährboden nur schwach oder manchmal gar nicht wachsen. Neben *Yersinia* spp. können auch andere Darmbakterien wachsen; die Identifizierung verdächtiger Kulturen ist unbedingt erforderlich.

## Literatur

1. Entwurf EN ISO 10273 (2001) „Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln – Horizontales Verfahren zum Nachweis von präsumtiven pathogenen *Yersinia enterocolitica*.“
2. Schiemann, D.A. (1979) Can. J. Microbiol. 25, 1298-1304.
3. Swaminathan, B., Harmon, M.C. und Mehlman, I.J. (1982) J. Appl. Bacteriol. 52, 151-183.
4. Bisset, M.L. (1976) J. Clin. Microbiol. 4, 137-144.
5. Swaminathan, B., Harmon, M.C. und Mehlman, I.J. (1982) J. Appl. Bacteriol. 52, 151-183.
6. Mair, N.S. und Fox, E. (1986) "Yersiniosis: Laboratory Diagnosis, Clinical Features and Epidemiology". PHLS, London.
7. Pai, C.H. et al. (1979) J. Clin. Microbiol. 9, 712-715.
8. DGHM (Lieferung 2, 1983) "Verfahrensrichtlinien für die Mikrobiologische Diagnostik". Kap. 2.1, S. 13.

## Identifizierung der *Yersinia*-Arten (angelehnt an DGHM<sup>8</sup>)

	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Y. pestis</i>
Kligler	Schrägfläche rot	Stich gelb	H <sub>2</sub> S:-, Gas:-
Glucose			
Säure	+	+	+
Gas	- <sup>1</sup>	-	-
Mannit	+	+	+
β-Galactosidase	-	-	-
Citrat (Simmons)	-	-	-
Indol (48 Stunden)	d <sup>2</sup>	-	-
Urease	+	+	-
Beweglichkeit (22°C)	+ <sup>3</sup>	+ <sup>3</sup>	-
Saccharose	+	-	-
D-Cellobiose	+	-	-
Ornithin-Decarboxylase	+	-	-
Voges-Proskauer (22°C)	+ <sup>3</sup>	-	-
Rhamnose	-	+	-
D-Melibiose	-	+	-
Salicin	- <sup>4</sup>	+	d
Äsculin	- <sup>4</sup>	+	+

Sofern nicht anders angegeben, werden die Kulturen 18-24 Std. bei 28°C bebrütet.

<sup>1</sup>: Nach 48 Stunden Bildung einer stecknadelkopfgroßen Gasblase.

<sup>2</sup>: Reaktion in Abhängigkeit von Biovar.

<sup>3</sup>: Bei 36°C negativ.

<sup>4</sup>: Stämme von Biovar 1 (in der Regel apathogen) sind positiv.

+: ≥ 90% positiv; d: 10–90% positiv; -: ≤ 10% positiv.