

Yersinia-Selektivnährboden

(CIN-Agar nach Schiemann)

Zur Isolierung von *Yersinia enterocolitica* aus Lebensmitteln und klinischem Untersuchungsmaterial. Der Nährboden entspricht dem Entwurf der EN ISO 10273¹.

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^{2,3} 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 nachgewiesen⁴. 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.

Schiemann³ 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^{5,6}.

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.

Kälteanreicherung⁷

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 präsumptiven 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 DGHM⁸)

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

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

¹: Nach 48 Stunden Bildung einer stecknadelkopfgroßen Gasblase.

²: Reaktion in Abhängigkeit von Biovar.

³: Bei 36°C negativ.

⁴: Stämme von Biovar 1 (in der Regel apathogen) sind positiv.

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