Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 78 (1987)

Heft: 3-4

Artikel: Verbesserte Identifizierung von Escherichia coli auf dem ECD-Medium : Bestimmung der -Glucuronidaseaktivität = Improved identification of E. coli on the ECD-medium : determination of the -glucuronidase-activity

Autor: Illi, H. / Engberg, Bona

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982992

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 05.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **78**, 397–400 (1987)
Eingegangen 24. Juli 1987. Angenommen 28. Juli 1987

Kurze Mitteilungen – Communications brèves

Verbesserte Identifizierung von Escherichia coli auf dem ECD-Medium: Bestimmung der β-Glucuronidaseaktivität

Improved Identification of *E. coli* on the ECD-Medium: Determination of the β-Glucuronidase-activity

H. Illi und *Bona Engberg*
Bundesamt für Gesundheitswesen, Bern

Einleitung

Das von der Arbeitsgruppe «Mikrobiologie der Lebensmittelkontrolle Nordwestschweiz» beschriebene Membranfilterverfahren für den schnellen Direktnachweis von *E. coli* in Lebensmitteln (1–3) hat sich in der Praxis gut bewährt. Diese Methode wurde deshalb in die Sammlung der amtlichen Untersuchungsverfahren aufgenommen (4). Vereinzelt werden, vor allem bei Milchprodukten, falsch positive Ergebnisse durch indolpositive *Klebsiella oxytoca* vorgetäuscht. Durch den Zusatz von 2% Harnstoff zum ECD-Agar können diese Keime am Wachstum gehindert werden; *E. coli* wird dadurch nicht beeinflusst (4). In der Literatur (5–10) wird die Prüfung auf die β-Glucuronidase als zuverlässiges Kriterium zur Identifikation von *E. coli* beschrieben. Bei der Spaltung von 4-Methylumbelliferyl-β-D-Glucuronid (MUG) wird das bei langwelligem UV-Licht (366 nm) blau fluoreszierende 4-Methylumbelliferon freigesetzt. Von den geprüften *E. coli*-Stämmen bildeten 97% das Enzym; in der Familie der Enterobacteriaceen sind nur noch Salmonella spp., Shigella spp. und einige Yersinia spp. als β-glucuronidasepositiv bekannt (8).

Bei den in der Literatur beschriebenen Verfahren werden den empfohlenen Selektivmedien 100 mg/l MUG zugesetzt, was die Mediumkosten pro Platte um ca. 90 Rp. erhöht. Diese Kosten fallen unabhängig davon an, ob die Probe verdächtige, näher zu prüfende Keime enthält oder nicht. Im folgenden wird ein Verfahren beschrieben, welches geringere MUG-Konzentrationen erfordert. Ein weiterer Vorteil liegt darin, dass nur noch diejenigen Proben, welche verdächtiges Wachstum zeigen, näher geprüft werden müssen.

Vorgehen

Die Methode zum Nachweis von *E. coli* mit dem ECD-Verfahren ist in (1, 4) beschrieben. MUG (0,3–0,6 mg/ml) wird in NaCl-Pepton-Lösung gelöst und kann in Portionen abgefüllt tiefgefroren aufbewahrt werden. Für den β-Glucuronidasetest wird das Membranfilter nach der Inkubation auf ein mit 0,5 ml MUG-Lösung getränktes Papierfilter (5,5 cm ∅) gelegt. β-glucuronidasepositive Kolonien zeigen, je nach MUG-Konzentration, nach 2–10 min eine deutliche blaue Fluoreszenz unter der UV-Lampe; bei längerer Inkubation ist diese, in schwächerer Form, auch auf dem Rundfilter sichtbar. Bei Bedarf können vom Membranfilter Kolonien für weitere Kontrollen abgeimpft werden. Weder MUG-Lösung noch die Rundfilter müssen für den Test steril sein. Die Fluoreszenz bleibt auf den Membranfiltern über Wochen sichtbar. Eine sofortige Auswertung ist deshalb nicht notwendig, und die Membranfilter können zur Dokumentation aufbewahrt werden. Auf den Rundfiltern verschwindet die Fluoreszenz mit dem Trocknen der Filter. Durch deren Anfeuchten mit destilliertem Wasser kann sie jedoch bis zu einem gewissen Grade wieder sichtbar gemacht werden; dies ist jedoch nur innerhalb weniger Stunden nach Durchführung des Tests möglich.

Alternativ können die Rundfilter auch mit MUG-Lösung einige Minuten getränkt, bei 37 °C getrocknet und im Kühlschrank über Silikagel mindestens 2 Monate aufbewahrt werden (10). Das Membranfilter wird nach der Inkubation vom ECD-Agar abgehoben und das imprägnierte Filter blasenfrei auf den Agar aufgelegt. Nachdem das Rundfilter gleichmässig Feuchtigkeit aufgesogen hat, wird das Membranfilter auf das Papierfilter gelegt. Die Ablesung der Reaktion erfolgt ebenfalls nach 2–10 min unter der UV-Lampe. Wenn aus Zeitgründen der Test nicht sofort ausgewertet werden kann, ist die Lagerung der Platte auch während Tagen im Kühlschrank möglich.

Der Indolnachweis kann direkt im Anschluss an den β-Glucuronidasetest oder auch erst nach mehreren Tagen oder Wochen, wie in (1, 4) beschrieben, durchgeführt werden. Bei über Wochen aufbewahrten Membranfiltern nimmt die Intensität der Indolreaktion jedoch ab. Da beim MUG-Test, im Gegensatz zum Indoltest, keine Hofbildung erfolgt, können sowohl Membranfilter mit hoher Koloniezahl zuverlässig ausgewertet als auch nahe beieinanderliegende Kolonien als β-glucuronidasepositiv bzw. -negativ erkannt werden.

Zusammenfassung

Die Spezifität des sich für die direkte Bestimmung von *E. coli* in Lebensmitteln bewährten ECD-Mediums kann durch den Nachweis der β-Glucuronidase verbessert werden. Die inkubierten Membranfilter werden auf ein mit 4-Methylumbelliferyl-β-D-Glucuronid (MUG) imprägniertes Papierfilter gelegt. Bei der Spaltung des Fluorogens durch β-Glucuronidase resultiert eine unter langwelligem UV-Licht sichtbare Fluoreszenz. Neben ca. 97% der *E. coli*-Stämme bilden in der Familie der Enterobacteriaceen nur noch einige Salmonella spp., Shigella spp. und Yersinia spp. dieses Enzym.

Résumé

La spécifité de la détermination directe de *E. coli* sur milieu ECD peut être améliorée par la mise en évidence de la β-glucuronidase. Dans la famille des Enterobacteriaceae, outre 97% des *E. coli,* seules quelques Salmonella spp., Shigella spp. et Yersinia spp. peuvent produire cette enzyme. Après incubation, les filtres à membrane sont mis en contact avec des papiers filtres imprégnés d'une solution à base de 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide. La fragmentation du fluorogène par la β-glucuronidase est characterisée par une fluorescence visible sous lampe UV à 366 nm.

Summary

The specificity of the direct enumeration of *E. coli* in foods on the ECD-medium can be improved by the determination of the β-glucuronidase. The incubated membrane filters are put on a previously with 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide impregnated paperdisk. β-glucuronidase cleaves this substrate to yield a fluorescent end product. In the family Enterobacteriaceae 97% of the *E. coli* strains some Salmonella spp., Shigella spp. and Yersinia spp. are reported to produce this enzyme.

Literatur

1. Arbeitsgruppe Mikrobiologie der Lebensmittelkontrolle Nordwestschweiz: Methode zum direkten Nachweis von Escherichia coli in Wasser. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. C, **2**, 61–67 (1981).
2. Arbeitsgruppe Mikrobiologie der Lebensmittelkontrolle Nordwestschweiz: Alternative Methode der Vorinkubation beim direkten Nachweis von Escherichia coli in Wasser mit dem ECD-Medium. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **73**, 455–456 (1982).
3. Arbeitsgruppe Mikrobiologie der Lebensmittelkontrolle Nordwestschweiz: Anwendung des ECD-Mediums für den direkten Nachweis von Escherichia coli in Lebensmitteln. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **73**, 457–461 (1982).
4. Schweizerisches Lebensmittelbuch: Kapitel 56 «Mikrobiologie». Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1985.
5. *Feng, P. C. S.* and *Hartmann, P. A.:* Fluorogenic assays for immediate confirmation of Escherichia coli. Appl. Environ. Microbiol. **43**, 1320–1329 (1982).
6. *Killian M.* and *Bulow, P.:* Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B **84**, 245–251 (1976).
7. *Lew Minor, L.:* Tetrathionate-reductase, β-glucuronidase, and ONPG-test in the genus Salmonella. Ztbl. Bakt. Parasitenk. Infektionsk. Hyg., Abt. 1, Orig. Reihe A **243**, 321–325 (1979).
8. *Robison, B. J.:* Evaluation of a fluorogenic assay for detection of Escherichia coli in foods. Appl. Environm. Microbiol. **48**, 285–288 (1984).
9. *Moberg, L. J.:* Fluorogenic assay for rapid detection of Escherichia coli in food. Appl. Environm. Microbiol. **50**, 1383–1387 (1985).

10. *Hahn, G.:* E. coli: Identifizierung verdächtiger Kolonien in zwei Minuten. Arch. Lebensm. Hyg. **38**, 56–57 (1987).

Dr. H. Illi
Bona Engberg
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelkontrolle
Sektion Bakteriologie
Postfach
CH-3000 Bern 14