

# Eine vereinfachte Methode zur Keimzahlbestimmung und biologischen Betriebskontrolle

Autor(en): **Lüthi, H. / Vetsch, U.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **51 (1960)**

Heft 5

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982931>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Eine vereinfachte Methode zur Keimzahlbestimmung und biologischen Betriebskontrolle

Von H. Lüthi und U. Uetsch

(Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil)

Die qualitative oder quantitative Keimzahlbestimmung spielt nicht nur in den medizinischen und lebensmittelhygienischen Laboratorien, sondern auch in vielen Fabrikationsbetrieben eine wichtige Rolle. Sie wird häufig als Routineanalyse betrieben. In der Regel werden dazu feste, in ihrer Zusammensetzung den Bedürfnissen der jeweils interessierenden Mikroorganismen angepasste Nährböden verwendet. Zum Nachweis bestimmter Keimarten werden Differential-Nährböden eingesetzt.

Die verbreitetste Methode zur Keimzahlbestimmung oder -differenzierung ist ohne Zweifel die Plattenmethode. Ihre klassische Ausführung erfolgt unter Verwendung der *Petrischalen*. An deren Stelle sind aber im Laufe der Zeit andere Glasgefässe getreten; eckige, runde und zugleich ganz flache Glasflaschen, welche mit Watte oder Schraubenkapsel verschlossen werden können. Der Nachteil schlechter Reinigungsmöglichkeit hat manche dieser Formen wieder zum Verschwinden gebracht. In neuerer Zeit ist in den USA ein zweckmässiges, flaches und mit Schraubenverschluss versehenes Glasgefäss im Handel, welches seiner Billigkeit wegen nur einmal verwendet wird.

Neben der Petrischale und den sie ersetzenden flachen Glasgefässen wird auch die Rollmethode zur Keimzählung oder Differenzierung angewendet. Teströhrchen oder Flaschen werden mit beimpften, festen Nährböden ausgerollt und so zur Keimzählung verwendet.

Alle diese Verfahren besitzen gewisse Nachteile. Sie sind am offensichtlichsten bei der Petrischale, wo Nährlösung und Schale separat sterilisiert werden müssen und wo sowohl das Einbringen des Nährbodens als auch die Beimpfung eine gewisse Kenntnis der Technik voraussetzen. Dennoch verbleibt eine beträchtliche Infektionsgefahr. Dies trifft besonders bei der Arbeit in Betriebslaboratorien und bei Betriebskontrollen zu. In die übrigen Glasgefässe kann, nach zweckmässiger Vorbehandlung, der Nährboden eingefüllt und mit dem Gefäss sterilisiert werden. Dies bedeutet schon eine wesentliche Vereinfachung des Verfahrens. Ausserdem ist bei kleiner Oeffnung dieser Gefässe die Infektionsgefahr nicht mehr stark ins Gewicht fallend.

Alle erwähnten Methoden stützen sich auf zerbrechliche Glasgefässe, welche – von der erwähnten Ausnahme abgesehen – zu wiederholtem Gebrauch herbeigezogen und deshalb stets wieder gereinigt, mit neuem Nährboden versehen und sterilisiert werden müssen. Gerade diese letzten Punkte fallen bei Routineanalysen in jedem Laboratorium, ganz besonders aber in solchen von praktischen Betrieben stark ins Gewicht.

Aus den erwähnten Gründen haben wir die bestehenden Methoden abzuändern versucht und führen heute unsere Routine-Keimzahlbestimmungen und Differenzierungen in einer «Wegwerfpackung» durch. Als «Schale» verwenden wir einen Polyäthylenschlauch, dessen Breite und Länge nach Wunsch geändert und den speziellen Bedürfnissen leicht angepasst werden kann. Für Hefezählungen haben wir einen Schlauchdurchmesser von 5 cm und eine Länge von 15 cm gewählt (Abb. 1). Dieser Schlauch wird von der Fabrik praktisch steril geliefert

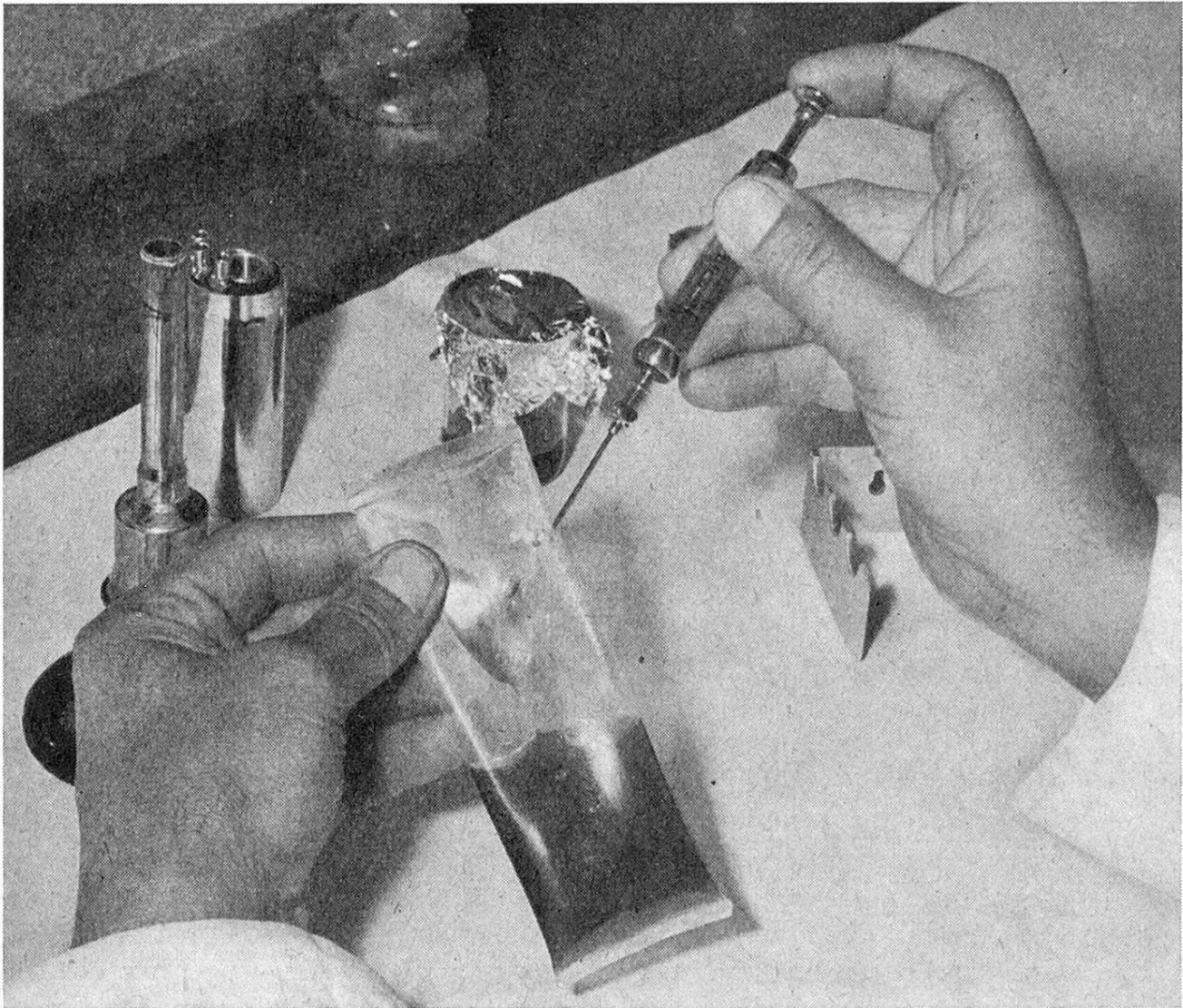


Abbildung 1  
Impfung eines Plastikbeutels

Auf dem Bilde ist die Grösse des Beutels und die Methode seiner Beimpfung deutlich sichtbar. Im vorliegenden Fall wurde ein hoch viskoses Fruchtsaftkonzentrat auf seinen Gehalt an osmophilen Hefen hin kontrolliert (Probe unter Stanniolverschluss). Zu diesem Zwecke musste eine dicke Impfnadel verwendet werden. Aufbewahrung und Desinfektion der Spritze und Nadeln im Metallzylinder neben dem Bunsenbrenner. Foto Nr. 749 EVW.

(Verarbeitungstemperatur nach Angaben des Werkes ca. 250° C \*)). Er lässt sich im Laboratorium leicht selber schweissen, auf die gewünschte Länge zuschneiden und mit einem zweckmässigen Nährboden füllen.

Polyäthylenschläuche vertragen wohl längere Zeit die Siedetemperatur des Wassers. Sie können aber nicht autoklaviert werden. Für diesen Zweck müssen Schläuche aus anderm Material, z.B. Polyamid, herbeigezogen werden. Die glasklaren Polyäthylenschläuche lassen sich aber trotzdem verwenden, wenn man den bereits sterilisierten Nährboden einfüllt. Dies lässt sich unmittelbar unter der oberen Schweisstelle tun. Nach dem sorgfältigen Einfüllen soll der Beutel unterhalb der Einstichstelle wieder abgeschweisst werden.

## Methodik

Die kurz beschriebenen Polyäthylenschläuche werden für Hefezählungen mit 15 ml eines geeigneten sterilen Agarnährbodens gefüllt, nachher zugeschweisst und während 30 Minuten im Dampftopf bei 90° entkeimt. Nach dem Abkühlen können die vorbereiteten Plastikbeutel in einem luftdicht verschliessbaren Gefäss oder zu 5 bis 10 Stück in Stanniol verpackt werden und sind so jederzeit verfügbar.

Für die Beimpfung müssen die Beutel während 2 bis 3 Minuten in einem hohen Becherglas zu 250 ml Inhalt in siedendes Wasser getaucht werden. Anschliessend stellt man sie in Wasser von 47° C. Nach 10 Minuten hat der Inhalt des Beutels die Wassertemperatur angenommen und ist gebrauchsfertig.

Zur Beimpfung verwenden wir eine Rekordspritze von 1 ml Inhalt, deren Nadeldicke dem zu impfenden Material angepasst sein muss. Es ist zweckmässig, die vorgesehene Einstichstelle mit einem in Alkohol oder einem andern wirksamen Desinfektionsmittel getränkten Wattebausch zuerst abzureiben. Die Impfung erfolgt im obersten Drittel des Beutels vom Rande her (Abb. 1). Beim Anfassen lässt sich dieser durch eine leichte Bewegung des Daumens nach der Zeigefingerspitze hin gut aufwölben, so dass das Einstechen der Nadel keine Schwierigkeiten mehr bereiten kann.

Nach dem Herausziehen der Nadel und erneuter Desinfektion mit einem Alkoholwattebausch kann die Einstichstelle des noch warmen Beutels durch leichtes Drücken mit der Hand oder durch Zukleben mit einem Scotchband wieder geschlossen werden. Nach unserer Erfahrung genügt in der Regel ein leichtes Hin- und Herbewegen, um die Beutel wieder dicht zu verschliessen. Dies geht daraus hervor, dass Gärungen und Gasbildungen im Nährboden den Beutel zu einem runden «Kissen» anschwellen lassen.

Die Durchmischung des eingepfunden Materials mit dem Nährboden ist sehr einfach und erfolgt durch Hin- und Herdrücken des flüssigen Inhaltes zwischen

---

\*) Wir möchten hier der Firma Bührle & Co., Elektrodenfabrik, Zürich-Oerlikon, für das uns zur Verfügung gestellte Versuchsmaterial bestens danken.

den Fingern. Das Erstarrenlassen des Nährbodens kann wiederum nach Wunsch und nach den mikrobiologischen Bedürfnissen erfolgen. Soll die Schicht dick sein, so wird der Beutel von der Schmalseite her leicht zusammengepresst, was den Inhalt absinken lässt. Durch geeignetes Pressen kann eine variable Schichtdicke erzielt werden. Durch völliges Eintauchen des Beutels in ein Becherglas mit kaltem Wasser steigt der Nährboden im Beutel und erstarrt in kürzester Zeit zu einer gleichmässigen flachen Schicht, deren Dicke sich durch die Menge des eingefüllten Nährbodens und die Schlauchdimension beliebig wählen lässt. Beim Einlegen der Beutel zwischen zwei Glasplatten lässt sich die Schichthöhe und -dicke ebenfalls nach Wunsch einstellen.

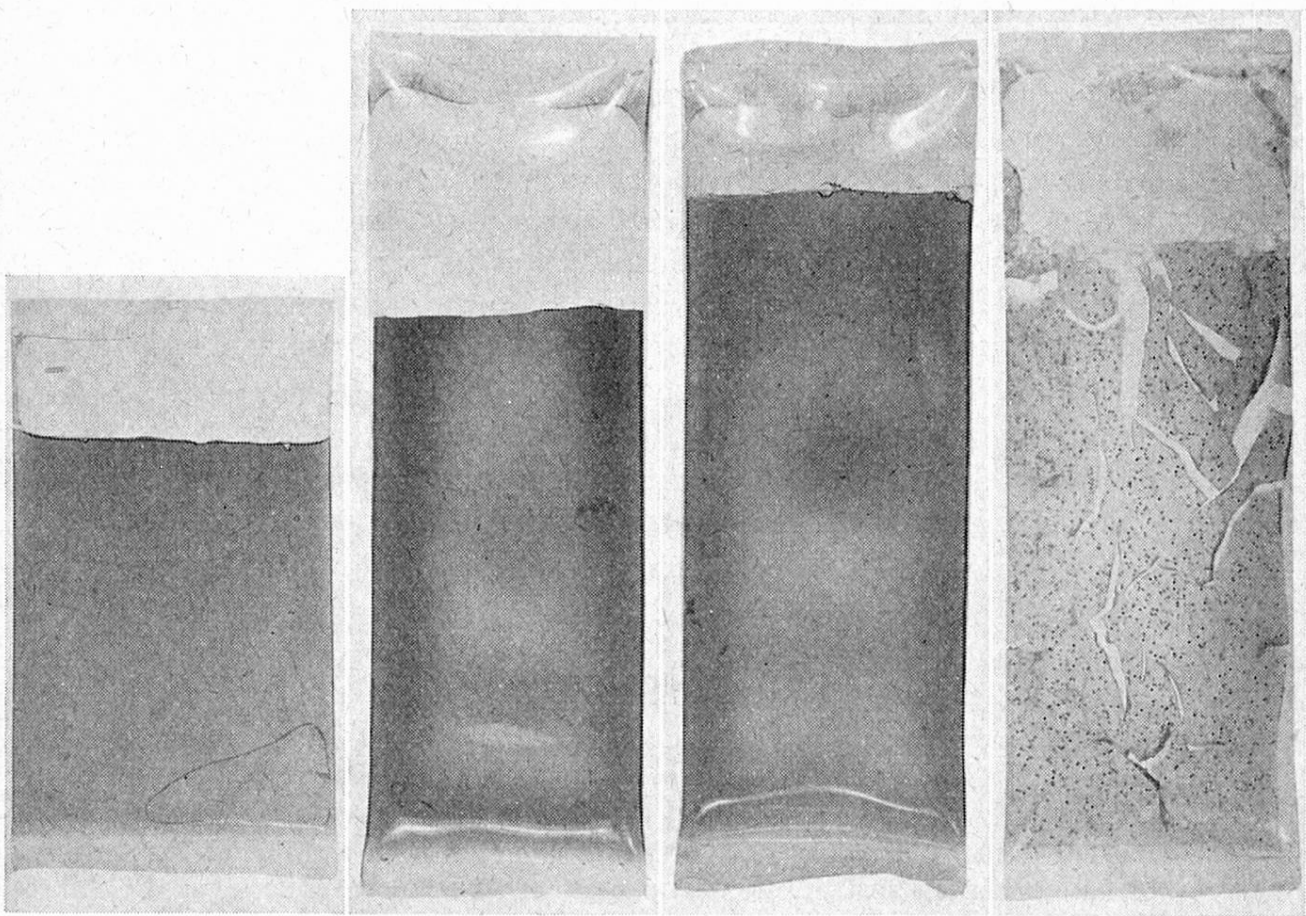


Abbildung 2

Mit einem Fruchtsaftkonzentrat beimpfte Plastikbeutel verschiedener Grösse

Verschieden stark mit Trypanblau eingefärbtes Nährmedium. Von links nach rechts:

Beutel 1 und 2 verschiedene Dimension, kleiner Hefegehalt.

Beutel 3 und 4 grösserer Hefegehalt.

Der letzte Beutel wurde durch Kohlensäureentwicklung stark aufgeblasen, so dass der Nährboden zerriss.

Foto 745-47 EVW.

Wie die Abbildung 2 zeigt, lassen sich die Keimzählungen und Kontrollen mit dem Verfahren sehr leicht durchführen. Im vorliegenden Falle einer Hefezählung sind die Nährböden nach *Gunner* und *Rainbow* (1953) mit dem Vitalfarbstoff Trypanblau versetzt. Damit lassen sich die Hefekolonien als dunkelblaue Punkte sehr bald und deutlich erkennen. Wie bereits erwähnt, sind alle möglichen Differential-Nährböden denkbar. Durch Anwendung selektiv wirkender Antibiotika oder Konservierungsmittel (*Beech* und *Carr* 1955) können auch Nährböden nur für Hefen, Bakterien oder Schimmelpilzwachstum präpariert werden.

Unsere Arbeitsmethode ist mit gutem Erfolg bereits in die *mikrobiologische Betriebskontrolle* eingeführt worden. Dort hat sie sicher ihre besonderen Möglichkeiten.

In vielen Betrieben besteht kein eigenes Laboratorium mit bakteriologisch geschulten Arbeitskräften. Die Herstellung von zweckmässigen Nährböden, das Sterilisieren, Einfüllen und Beimpfen von Petrischalen oder geeigneten Glasflaschen ist unmöglich oder mit grössten Schwierigkeiten verbunden. Solchen Betrieben sind vorfabrizierte Plastikbeutel mit für sie zweckmässigen Nährböden eine willkommene Erleichterung. Das beschriebene Verfahren ist aber nach kürzester Anleitung beinahe jeder Hilfskraft zugänglich. Die Rekordspritze lässt sich, wie Abbildung 1 zeigt, in einem Behälter aus rostfreiem Material in Alkohol oder einem andern zweckmässigen Desinfektionsmittel aufbewahren und ist für eine Betriebskontrolle sofort bereit.

Die Methode ist bisher in Fruchtsaft- und Konzentratabriken mit sehr gutem Erfolg eingesetzt worden und hat dort zu einer vermehrten Kontrolle der Wirksamkeit von Desinfektionsarbeiten und des Keimgehaltes von Fruchtsaftkonzentraten geführt. Damit ist ihre Anwendbarkeit aber sicher nicht erschöpft!

### *Zusammenfassung*

Es wird eine vereinfachte Methode zur Keimzählung und Differenzierung vorgeschlagen. Anstelle des klassischen Plattenverfahrens mit Petrischalen, Rollflaschen oder andern Glasgefässen wird ein Plastikbeutel aus Polyäthylen oder Polyamid verwendet, der nach Gebrauch weggeworfen werden kann. Durch Einfüllen geeigneter Nährmedien und Vorfabrikation eignen sich die Beutel in manchen Fällen besonders für die mikrobiologische Betriebskontrolle.

### *Résumé*

Description d'une méthode simplifiée pour la numération et la différenciation des germes. A la place des boîtes de Pétri ou des flacons utilisés habituellement on emploie de sachets en matière plastique (polyéthylène ou polyamide) qu'ont peut jeter ensuite. Ces sachets, qui contiennent les milieux appropriés, peuvent être préparés d'avance et conviennent particulièrement pour le contrôle microbiologique de fabrication.

### Summary

A simplified method, using polyethylene or polyamide tubes (bags) is suggested, instead of the hitherto mainly used plate counting or roll tube methods for estimation and differentiation of microorganisms. The bag may be inoculated by injection by means of a simple syringe and discarded after use. Prefabricated tubes with some standard media are used for routine laboratory controls.

### Literatur

- F. W. Beech* und *J. G. Carr*, A Survey of Inhibitory Compounds for the Separation of Yeasts and Bacteria in Apple Juices and Ciders. *J. Gen. Microbiology* **12** 1, 86–94 (1955).
- J. T. Gunner* and *C. Rainbow*, Note on a Method of Vital Staining for *Saccharomyces rouxii*. *J. Gen. Microbiology* **9**, 25 (1953).

