

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 53 (1962)

Heft: 3

Artikel: Beobachtungen bei der Bestimmung der Zahl der Coli-keime und dem Salmonellennachweis

Autor: Forster, H. / Gasser, H.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982560>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 13.01.2025

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

Beobachtungen bei der Bestimmung der Zahl der Colikeime und dem Salmonellennachweis

Von *H. Forster* und *H. Gasser*

A. Zur Bestimmung der Zahl der Colikeime in Joghurt auf Endoagar

Aus einigen (als durch Colikeime infiziert) verdächtigen Joghurtproben wurden Gußkulturen mit Endoagar hergestellt. Durch Bebrütung während 48 Stunden bei 37° C bildeten sich zahlreiche Kolonien mit dunkelrotem Hof, wobei die an der Nährbodenoberfläche gewachsenen Kolonien deutlichen Metallglanz aufwiesen. Bei gleichzeitig beimpfter Formiat-Rizinoleatbouillon blieb jedoch eine Gasentwicklung aus. Die Phosphatasereaktionen waren bei allen 5 Joghurtproben negativ, was die genügende Pasteurisierung der zur Joghurtherstellung verwendeten Milch bestätigte. Die ausbleibende Gasentwicklung in Formiat-Rizinoleatbouillon sowie die geringe Wahrscheinlichkeit einer Nachinfektion des Joghurtes mit Colibakterien veranlaßten uns, die dunkelroten und zum Teil metallglänzenden Kolonien auf Endoagar etwas genauer zu betrachten. Bei der mikroskopischen Prüfung zeigte sich rasch, daß es sich nicht um Coli-, sondern um Hefekolonien handelte. Gußkulturen der Joghurtproben mit Maltagar (Difco) bei pH 3,5 zeigten denn auch gutes Wachstum zahlreicher Hefekolonien. Der Versuch, die in der Endo-Gußkultur gewachsenen dunkelroten und metallglänzenden Kolonien nach Ausstechen auf Endoagar als Oberflächenstrichkultur zu züchten, gelang nicht. Auch beim Ueberimpfen der Hefekolonien von Maltagar auf Endoagar zeigte sich kein Wachstum. Möglicherweise hat die beim Herstellen der Gußkulturen in den Endoagar hineingebrachte Joghurtsubstanz (0,1 g pro 10 ml Agar) das Wachstum der Hefekolonien gefördert (Versuche in dieser Richtung sind beabsichtigt). Ob es sich bei den gemachten Beobachtungen um eine ganz bestimmte Hefeart handelt oder ob verschiedene Hefearten die gleichen Eigenschaften zeigen, haben wir nicht untersucht.

Im Bestreben, einen Colinährboden zu finden, welcher das Wachstum der Hefe verhindert, haben wir an Stelle von Endoagar Eosin-Methylenblauagar und Violet-Red-Bileagar für die Untersuchung der gleichen Joghurtproben verwendet. Auf dem Eosin-Methylenblauagar zeigten sich zahlreiche dunkelblaue Kolonien, von denen die oberflächlich gewachsenen deutlichen Metallglanz zeigten. Die mikroskopische Untersuchung dieser Kolonien zeigte, daß es sich auch hier um Hefe handelte. Die Kolonien konnten aber im Gegensatz zu den auf Endoagar gewachsenen ohne weiteres als Oberflächenstrichkultur auf Eosin-Methylenblauagarplatten weitergezüchtet werden. Die dabei erhaltenen üppigen Kulturen zeigten einen starken grünlichen Metallglanz und waren visuell von Colikulturen nicht zu unterscheiden. Sogar eine gewöhnliche Preßhefeaufschwemmung mit der Oese auf Eosin-Methylenblauagar ausgestrichen

zeigte bei der Bebrütung bei 20° C und 37° C ein gutes Wachstum dunkelblauer, metallglänzender Kolonien. Auf dem Violet-Red-Bileagar war jedoch überhaupt kein Wachstum zu sehen, weder in der Joghurtgußkultur noch in der Ausstrichkultur von auf Maltagar gewachsenen Kolonien, was nach der ausbleibenden Gasbildung in Formiat-Rizinoleatbouillon zu erwarten war. Um die 4 erwähnten Nährböden miteinander zu vergleichen, haben wir diese einerseits mit den durch Hefe infizierten Joghurtproben und andererseits mit den gleichen Proben, denen jedoch vorher Colikultur zugesetzt wurde, beimpft. Dabei wurden auf Endo- und Eosin-Methylenblauagar Hefe- und Colikolonien, auf Violet-Red-Bileagar nur Colikolonien und in Formiat-Rizinoleatbouillon durch Coliwachstum hervorgerufene Gasbildung festgestellt. Die Resultate sind in nachstehender Tabelle 1 zusammengestellt:

Tabelle 1

Probe Nr.	Joghurt mit Hefe infiziert				Joghurt mit Hefe und Coli infiziert			
	Anzahl coliartig gewachsene Kolonien pro 0,1 g Joghurt auf:			Gasbildung pro 0,1 g Joghurt in:	Anzahl coliartig gewachsene Kolonien pro 0,1 g Joghurt auf:			Gasbildung pro 0,1 g Joghurt in:
	Endo-agar	Eosin-Methylenblauagar	Violet-Red-Bile-agar		Formiat-Rizinoleatbouillon	Endo-agar	Eosin-Methylenblauagar	
1	420	460	0	—	600	660	180	+
2	2800	2640	0	—	2900	2750	202	+
3	518	424	0	—	700	528	176	+
4	896	1080	0	—	1060	1400	170	+
5	1200	1150	0	—	1210	1300	250	+

Eine Fühlungnahme mit dem Joghurtfabrikanten ergab, daß dieser zur Impfung eine ziemlich alte Joghurtkultur verwendete, die offenbar mit der Zeit durch unsachgemäße Behandlung mit Hefe infiziert worden war. Nach Verwendung einer frischen Kultur waren die Joghurtproben hefe- und colifrei.

Es ist also bei der Colikeimzahlbestimmung in Joghurt unter Verwendung von Endoagar Vorsicht geboten, da gewisse Hefezellen, die unter Umständen in den Joghurt gelangt sind, Kolonien zu bilden vermögen, die beim Auszählen leicht mit Colikolonien verwechselt werden können. Die Verwendung von Eosin-Methylenblauagar kommt in diesem Falle nicht in Frage, da dieser entsprechend den in unseren Versuchen gemachten Erfahrungen für das Wachstum von Hefe eher noch günstiger zu sein scheint als Endoagar. Hingegen war das Wachstum der Hefe auf Violet-Red-Bileagar vollständig gehemmt. Ebenso trat in der Formiat-Rizinoleatbouillon keine Gasbildung durch Hefe ein.

Es empfiehlt sich daher, zur Bestimmung der Colikeimzahl in Joghurt Violet-Red-Bileagar in Kombination mit Formiat-Rizinoleatbouillon zu verwenden.

B. Zur Bestimmung der Zahl der Colikeime in Milchpulver auf Endoagar

5 Proben ausländischen Milchpulvers, welche nach Angaben des Lieferanten als colifrei, bei der Kontrolle durch den Empfänger jedoch als coliinfiziert bezeichnet wurden, waren uns vom letzteren zur Nachkontrolle zugestellt worden.

Gußkulturen mit Endoagar hergestellt ergaben denn auch zwischen 24 bis 1600 coliarig gewachsene dunkelrote Kolonien mit dunkelrotem Hof pro 0,1 g Milchpulver, wobei die oberflächlich liegenden Kolonien typischen Metallglanz zeigten. Gleichzeitig beimpfte Formiat-Rizinoleatbouillon zeigte jedoch bei keiner der 5 Proben Gasbildung.

Die darauffolgende mikroskopische Untersuchung der erwähnten Kolonien ergab, daß es sich nicht um gramnegative Stäbchen, sondern um grampositive Kokken (wahrscheinlich Staphylokokken) handelte. Wegen Zeitmangel konnten diese nicht differenziert werden. Die gleichen 5 Proben auf Eosin-Methylenblauagar ausgesät ergaben zahlreiche dunkelblaue Kolonien, teilweise mit Metallglanz, welche sich ebenfalls als grampositive Kokken erwiesen. Dagegen war auf Violet-Red-Bileagar kein Wachstum festzustellen. Das Weiterzüchten der gewachsenen Kolonien durch Ausstreichen mit der Oese sowohl auf Endoagar wie auch auf Eosin-Methylenblauagar gelang auch hier nicht. Auf Tabelle 2 sind die erhaltenen Resultate zusammengestellt.

Zur Herstellung der Gußkulturen und zur Beimpfung der Formiat-Rizinoleatbouillon verwendeten wir eine Lösung des vermutlich staphylokokkenhaltigen Milchpulvers einerseits sowie die gleiche Milchpulverlösung nach vorangehender Infektion mit Colikultur andererseits.

Tabelle 2

Probe-Nr.	Milchpulver mit Staphylokokken infiziert				Milchpulver mit Staphylokokken und Coli infiziert			
	Anzahl coliarig gewachsene Kolonien pro 0,1 g Milchpulver auf:			Gasbildung pro 0,1 g Milchpulver in:	Anzahl coliarig gewachsene Kolonien pro 0,1 g Milchpulver auf:			Gasbildung pro 0,1 g Milchpulver in:
	Endo-agar	Eosin-Methylenblauagar	Violet-Red-Bile-agar		Formiat-Rizinoleatbouillon	Endo-agar	Eosin-Methylenblauagar	
1	1600	1400	0	—	1580	1450	110	+
2	1400	1300	0	—	1520	1440	115	+
3	24	28	0	—	130	110	95	+
4	84	96	0	—	160	156	120	+
5	500	420	0	—	650	600	105	+

Die Colikolonien waren auf Endo- und Eosin-Methylenblauagar etwas größer als die Staphylokokkenkolonien. Trotzdem konnten sie aber visuell nicht

mit Sicherheit von diesen unterschieden werden. Bei allen näher untersuchten Kolonien auf Violet-Red-Bileagar handelte es sich um Coli. Die Gasbildung in der Formiat-Rizinoleatbouillon war ebenfalls durch Coliwachstum verursacht.

Auch hier kamen wir zu der Feststellung, daß an Stelle von Endoagar und Eosin-Methylenblauagar bei der Colikeimzahlbestimmung am besten Violet-Red-Bileagar in Kombination mit Formiat-Rizinoleatbouillon verwendet wird.

Auf Grund der Beobachtungen unter A und B haben wir uns entschlossen, ganz allgemein bei der Colikeimzahl- und Titerbestimmung in Milch und Milchprodukten die beiden zuletzt genannten Nährböden zu verwenden.

C. Zum Salmonellennachweis

Beim Nachweis von Salmonellen in einer Cassata wurden als Anreicherungsmedien Selenitbrillantgrünmedium nach *Osborne* und *Stokes*^{1,2} sowie Tetrathionatbrühe verwendet. Als Plattennährböden wurden SS-Agar und Wismutsulfitagar gebraucht. Aus dem etwas selektiveren Selenitbrillantgrünmedium konnten auf dem gegenüber SS-Agar ebenfalls selektiveren Wismutsulfitagar schwarze, metallisch glänzende Kolonien gezüchtet werden, welche auch dem Nährboden in ihrer Umgebung einen schwarzen metallischen Glanz gaben. Beim Entfernen der Kolonien hinterließen diese auf dem Nährboden einen tiefschwarzen Fleck. Das Bild war zum Beispiel von demjenigen bei *S. typhimurium* visuell nicht zu unterscheiden. Auf SS-Agar war kein Wachstum zu sehen. Aus der Tetrathionatbrühe war sowohl auf SS-Agar als auch auf Wismutsulfitagar nichts gewachsen. Eine Probeagglutination mit polyvalentem *Salmonella*-O-Antiserum war stark positiv. Eine Kontrolle mit Normalserum war jedoch ebenfalls stark positiv. Es handelte sich also um Spontanagglutination. Die salmonellaverdächtigen Kolonien auf SS-Agar weitergezüchtet ergaben das typische Bild lactosefermentierender Keime. Dementsprechend war auch die Reaktion in Dreizuckereisenagar im Stich sowie auf der Schrägfläche gelb. Schwefelwasserstoff wurde nicht gebildet. Dagegen war der Indolnachweis positiv. Ebenso der Ureasenachweis, dieser jedoch verzögert. Auf Grund des biochemischen Verhaltens der Kultur konnte es sich also nicht um Salmonellen handeln.

Es ist also unbedingt notwendig, bei der Agglutination eine Kontrolle mit Normalserum durchzuführen. Ebenso ist eine kurze biochemische Prüfung der verdächtigen Kultur unerlässlich, wenn man vermeiden will, dem Spezialisten salmonellenfreie Kulturen zur Typendifferenzierung einzusenden.

Bemerkung: Alle unter A, B und C verwendeten Nährböden waren Difco³- und BBL⁴-Produkte, mit Ausnahme des Selenitbrillantgrünmediums nach *Osborne* und *Stokes*.

Zusammenfassung

Es wird über die ungenügende Selektivität von Endoagar bei der Colikeimzahlbestimmung in Milchprodukten wie Joghurt und Milchpulver berichtet. – Ferner über Beobachtungen an einer *Salmonella* vortäuschenden Kultur aus Cassata.

Résumé

On attire l'attention, d'une part, sur l'insuffisance de sélectivité de l'agar d'Endo dans le cas de la numération des Coli dans les produits laitiers tels que le yoghourt et le lait en poudre et, d'autre part, sur une culture provenant d'une cassata et simulant une salmonelle.

Summary

Critical practical examination of the Coli bacterial plate count on Endo agar of yoghourt and milk powder with the conclusion that this medium is insufficiently selective. — There is also discussed a bacterial culture from a cassata, simulating a Salmonella.

Literatur

- 1 J. L. Stokes und W. W. Osborne, A Selenite Brilliant Green Medium for the Isolation of Salmonella. Appl. Microbiol. **3**, 217–220 (1955).
- 2 W. W. Osborne und J. L. Stokes, A Modified Selenite Brilliant Green Medium for the Isolation of Salmonella from Egg products. Appl. Microbiol. **3**, 295–299 (1955).
- 3 Difco Manual, Detroit, Michigan, 1953.
- 4 B-B-L Products, Fourth Edition, 1956.

Beitrag zur Bestimmung der flüchtigen Anteile in Joghurtbechern aus Polystyrol

Von E. Flückiger

(Aus der Eidg. Milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt Liebefeld-Bern;
Direktor: Prof. Dr. P. Kästli)

1. Einleitung

Nach neueren Erhebungen sind die Polystyrolbecher schon heute mit mehr als 70 % der Verpackungseinheiten am Joghurtumsatz beteiligt¹. Hieraus zu schließen, die Eignung des Polystyrols für die Joghurtverpackung stelle keine Probleme mehr, würde jedoch den Tatsachen nicht gerecht.

Eines der Probleme besteht in dem Verhalten des Polystyrols gegen Fruchtjoghurt, das wir in einer früheren Mitteilung beleuchtet haben². Seit einiger Zeit sind nun die sogenannten flüchtigen Anteile des Polystyrols, deren Menge als Maßstab für die Beurteilung des Roh- und Fertigmateriale herangezogen wird, zum Gegenstand von Diskussionen geworden. Einerseits geht es dabei um die Toleranzen, die in Empfehlungen festgelegt wurden, und andererseits um die Methoden für die Bestimmung der flüchtigen Anteile, die mit der Festsetzung von Toleranzen notwendigerweise ebenfalls fixiert werden müssen. In der vorliegenden Mitteilung wird versucht, zur Klärung der über diese Fragen auf verschiedenen Ebenen geführten Diskussionen beizutragen.