

# Mikrothek- Bildatlas Mikrobiologie

Auswertung und Beurteilung - damit lösen Sie sicher alle Fälle!

von

Prof. Dr. Günther Klein

Grundwerk mit Ergänzungslieferungen

Behr's Verlag Hamburg

Verlag C.H. Beck im Internet:

[www.beck.de](http://www.beck.de)

ISBN 978 3 89947 372 8

## VII Routineproben von Lebensmitteln<sup>1</sup>

GÜNTER KLEIN

Im Bildatlas werden in den ersten 6 Kapiteln wichtige Lebensmittelinfektions- und -intoxikationserreger, Verderbs-erreger, technologisch genutzte Bakterien sowie spezifische Mikroorganismen beispielsweise im Fruchtsaft oder in der Mastitisdiagnostik vorgestellt. Dies geschieht, neben der Darstellung von nicht bebrüteten Nährböden, durch die Präsentation von Reinkulturen auf unspezifischen Medien und Elektiv- und Selektivmedien. Reinkulturen stehen am Ende eines Untersuchungsganges und erlauben die spezifische Identifizierung von Bakterienkulturen z. B. auf Spezialnährböden anhand von typischen Reaktionen wie Kohlenhydratverwertung oder Nicht-Verwertung verbunden mit einem pH-bedingten Farbumschlag oder anderen spezifischen Reaktionen (Präzipitatbildung, Fluoreszenz etc.). Diese Reaktionen sind in Mischkulturen nicht oder nur eingeschränkt ablesbar und bedürfen der Interpretation und einer gezielten Isolierung von verdächtigen Kolonien. Daher sollen in diesem Kapitel Ergebnisse von Routineuntersuchungen von Lebensmitteln auf unspezifischen und auf Spezialnährböden gezeigt werden, wie sie auch in der Praxis vorkommen. In der Regel handelt es sich um eine stark ausgeprägte Begleitflora, die von der Herkunft und Technologie des Lebensmittels abhängig ist. Präsumtive Aussagen können auch bei Vorhandensein einer Begleitflora getroffen werden, ebenso wie auch quantitative Aussagen. Eine endgültige Identifizierung erfordert aber eine Vereinzelung der Kolonien zunächst im Verdünnungsausstrich mit nachfolgender Anzucht als Reinkultur.

Dementsprechend sollen in diesem Kapitel praxisgerechte Untersuchungsbilder von relevanten Lebensmittelgruppen wie Rotfleisch, Geflügelfleisch, Fisch und deren Erzeugnissen sowie von zusammengesetzten Lebensmitteln besprochen werden. Dabei kommen neben unspezifischen Nährböden auch jeweils auf bestimmte Keimarten zugeschnittene Spezialnährböden zum Einsatz. Die Keimart ist abhängig von der Art und Herkunft des Lebensmittels (frisch vs. Dauerware; Rotfleisch vs. Geflügelfleisch vs. Fisch etc.) und auch von der Technologie bzw. Angebotsvariante (fermentiert vs. roh; verpackt vs. unverpackt; mit modifizierter Atmosphäre verpackt bzw. in Vakuum verpackt; Erhitzungsgrad etc.). Das Keimspektrum wird dadurch stark beeinflusst, da unterschiedliche Anforderungen z. B. an den Sauerstoffgehalt oder den pH-Wert gestellt werden. Dies beeinflusst dann auch die Wahl der Selektivmedien.

Ziel ist es, dem Anwender praxisnahe Bilder zur Orientierung in Mischkulturen zur Verfügung zu stellen und typische Mikroorganismen auch bei Vorliegen einer Begleitflora zu erkennen. Hierzu werden auch weitergehende, z. B. biochemische Untersuchungen gezeigt.

<sup>1</sup> Details und Literatur hierzu finden Sie im BEHR'S „Handbuch Lebensmittelhygiene“ ([www.behrs.de](http://www.behrs.de)).

## VII.1 Rotfleisch und Fleischerzeugnisse<sup>1</sup>

FELIX REICH UND GÜNTER KLEIN

Unter Rotfleisch wird Fleisch der großen schlachtbaren Haustiere verstanden, also Fleisch von Rind, Schwein, kleinen Wiederkäuern (Schaf, Ziege), im weiteren Sinne zählt aber auch Wildfleisch hierzu. In Abgrenzung hierzu wird weißes Fleisch vom Geflügel gewonnen. Fleischerzeugnisse sind Produkte, die durch Behandlung von frischem Fleisch erzeugt wurden, also z. B. durch Fermentieren, Salzen oder Erhitzen. Diese Fleischarten haben jeweils eigene mikrobiologische Besonderheiten.

### Mikrobiologie

Rotfleisch zeichnet sich in der Tiefe der Muskulatur direkt nach der Gewinnung (d. h. Schlachtung) durch Keimarmut oder sogar Sterilität aus. Allerdings ist die Oberfläche durch den Schlachtprozess und ggf. die weitere Verarbeitung mit Fäkal- und Umgebungskeimen kontaminiert. Mit erhöhtem Zerkleinerungsgrad vergrößert sich auch die Gefahr einer höheren Kontamination. Daher ist Hackfleisch i. d. R. höhergradig mikrobiologisch belastet als Fleisch am Stück wie gewachsen. Die Mikroflora setzt sich aus typischen Fäkal- und Umgebungskeimen zusammen. Daher bilden Enterobakteriaceen mit Vertretern wie z. B. *E. coli*, *Citrobacter*, Klebsiellen einen Teil der Flora. Salmonellen können im Einzelfall als pathogene Vertreter hinzukommen. Zur typischen Verderbsflora gehören auch die oxidasepositiven Pseudomonaden und *Moraxella*. Neben diesen Gram-negativen Keimen kommen Gram-positive Bakterien als natürliche oder Verderbsflora hinzu, z. B. *Brochothrix*, Enterokokken, Laktobazillen und Mikrokokken. Pathogene Vertreter mit Intoxikationspotential können hier Clostridien oder *Staph. aureus* sein.

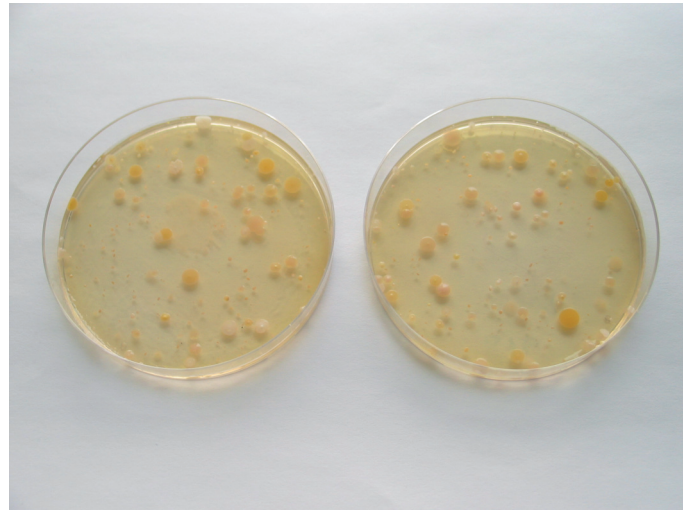
Weitere pathogene Vertreter können z. B. *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* oder *Bacillus cereus* darstellen. Die Flora der Fleischerzeugnisse ist jeweils produktabhängig unterschiedlich. So sind umgerötete, fermentierte Fleischerzeugnisse geprägt von einer typischen Pökelflora, die Mikrokokken und Laktobazillen umfassen kann. Abgetrocknete Erzeugnisse haben ein anderes mikrobiologisches Profil als Produkte mit Frischecharakter. Daher muss die Untersuchung jeweils zielgerichtet auf das jeweilige Produkt ausgerichtet sein. Dementsprechend sollen in diesem Kapitel Nährböden mit Keimarten gezeigt werden, die sich aus Routineproben der jeweiligen Rotfleischarten ergeben. Dies umschließt Proben vom Rindfleisch, Schweinefleisch, Fleisch von Schaf/Ziege bis hin zum Wildfleisch sowie zugehörigen Fleischerzeugnissen. Die Auswertung erfolgt auf unspezifischen Nährmedien sowie Spezialnährmedien für bestimmte Keimgruppen einschließlich nachfolgender Identifizierung. Die Proben ergeben sich aus Anreicherungen oder Verdünnungsreihen (qualitative oder quantitative Untersuchungen).

<sup>1</sup> Details und Literatur hierzu finden Sie im BEHR'S „Handbuch Lebensmittelhygiene“ und in „Mikrobiologie der Lebensmittel – Fleisch, Fisch, Feinkost“ ([www.behrs.de](http://www.behrs.de)).

### Standard-I-Agar Fleischprobe (Rotfleisch), niedrigere Verdünnungsstufe

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
Anbieter: z. B. Merck/VWR  
Inkubation: 30 °C +/- 1 °C für 72 h +/- 3 h in aerobem Milieu  
Koloniemorphologie:  
• Mischkultur

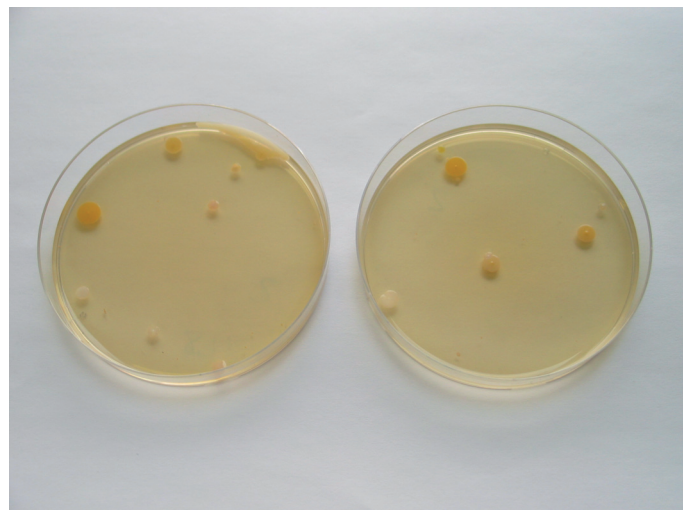
Anwendung bei der Bestimmung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl im Rahmen von Hygienekontrollen auch als Plattengussverfahren.



### Standard-I-Agar Fleischprobe (Rotfleisch), höhere Verdünnungsstufe

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
Anbieter: z. B. Merck/VWR  
Inkubation: 30 °C +/- 1 °C für 72 h +/- 3 h in aerobem Milieu  
Koloniemorphologie:  
• Mischkultur

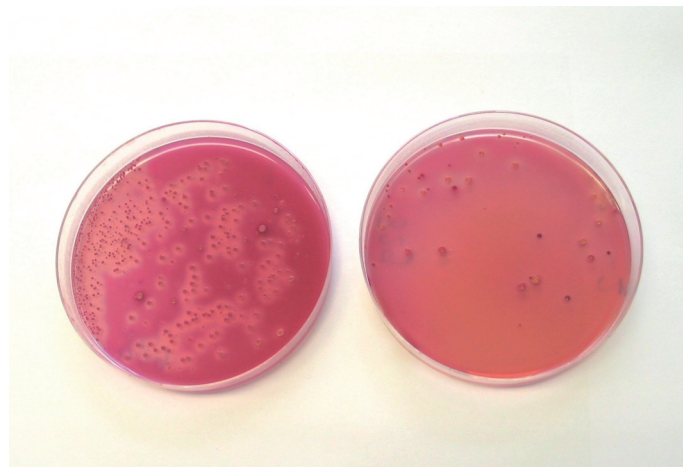
Anwendung bei der Bestimmung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl im Rahmen von Hygienekontrollen auch als Plattengussverfahren.



### VRBD (Kristallviolet-Galle-Glucose-Agar) Fleischprobe (Rotfleisch)

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
Anbieter: z. B. Merck, Heipha, Oxoid  
Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in anaerobem Milieu  
Koloniemorphologie:  
• Mischkultur  
• *Enterobacteriaceae*: rosa bis rot, mit oder ohne Präzipitationshof

Anwendung bei der Isolierung von *Enterobacteriaceae* im Rahmen von Hygienekontrollen auch als Plattengussverfahren. Links niedrigere Verdünnungsstufe, rechts höhere.



### VRBD

#### (Kristallviolet-Galle-Glucose-Agar)

#### Wildfleisch

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
Anbieter: z. B. Merck/VWR, Heipha, Oxoid  
Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in anaerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Mischkultur (Ausschnitt)
- *Enterobacteriaceae*: rosa bis rot, mit oder ohne Präzipitationshof

Ausschnitt von Kolonien mit deutlichem Präzipitationshof. Anwendung bei der Isolierung von *Enterobacteriaceae* im Rahmen von Hygienekontrollen auch als Plattengussverfahren.



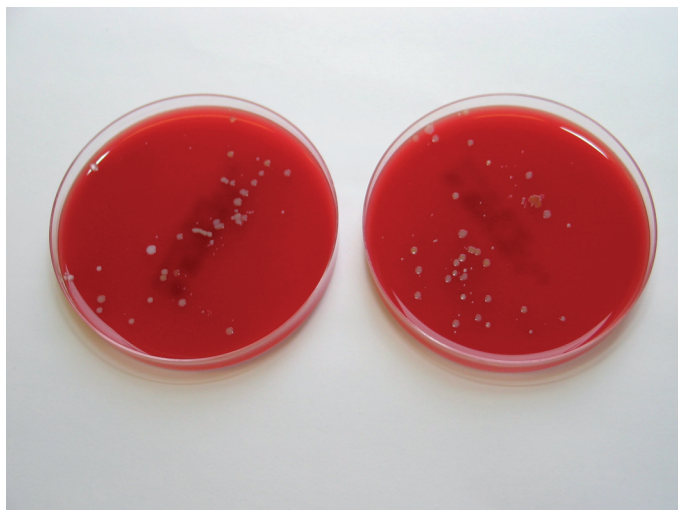
### Mueller-Hinton-Blut-Agar Fleischprobe (Rotfleisch)

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
Anbieter: z. B. Merck/VWR, Heipha, Oxoid  
Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 24 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Mischkultur

Links niedrigere Verdünnungsstufe, rechts höhere.



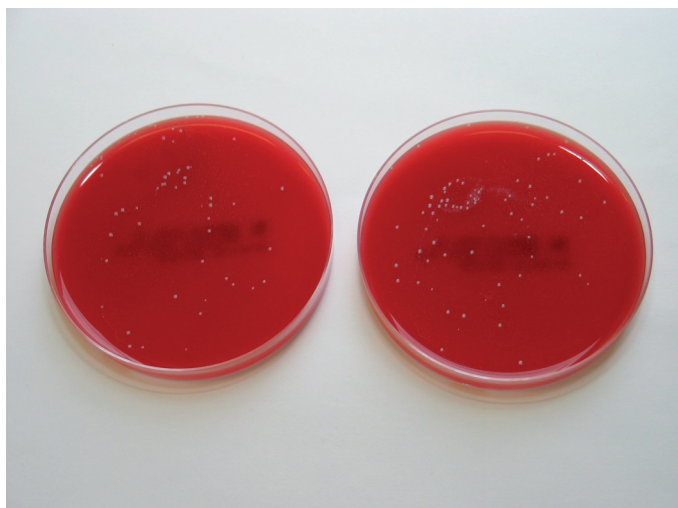
### Mueller-Hinton-Blut-Agar Rohwurst

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
Anbieter: z. B. Merck/VWR, Heipha, Oxoid  
Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 24 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Mischkultur

Dargestellt sind zwei Platten einer Verdünnungsstufe.

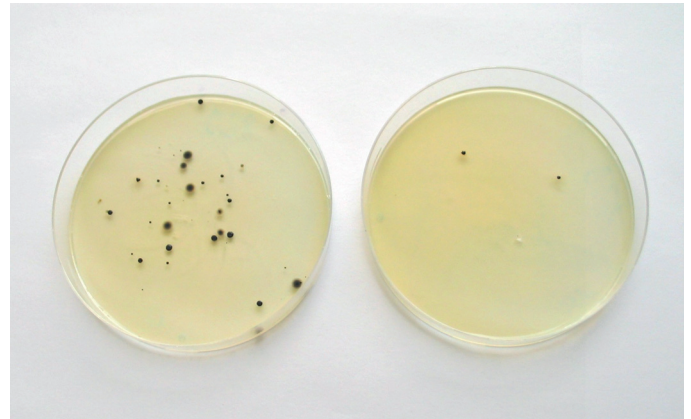




### Baird Parker Agar Fleischprobe (Rotfleisch)

- Methode: Oberflächenspatelverfahren  
 Anbieter: z. B. Merck/VWR, bioMérieux, Heipha, Oxoid  
 Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in aerobem Milieu  
 Koloniemorphologie:
- Mischkultur
  - *Staphylococcus aureus*: kleine schwarze, glänzende Kolonien mit opakem Hof (Lecithinase), klarem Lysishof (Lipase)

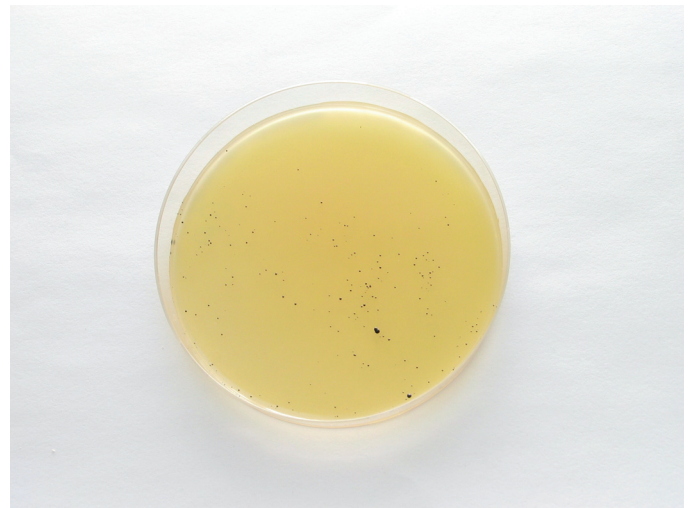
Anwendung zur Isolierung von *Staphylococcus aureus* aus Lebensmitteln. Links niedrigere Verdünnungsstufe, rechts höhere.



### Baird Parker Agar Rohwurst

- Methode: Oberflächenspatelverfahren  
 Anbieter: z. B. Merck/VWR, bioMérieux, Heipha, Oxoid  
 Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in aerobem Milieu  
 Koloniemorphologie:
- Mischkultur
  - *Staphylococcus aureus*: kleine schwarze, glänzende Kolonien mit opakem Hof (Lecithinase), klarem Lysishof (Lipase)

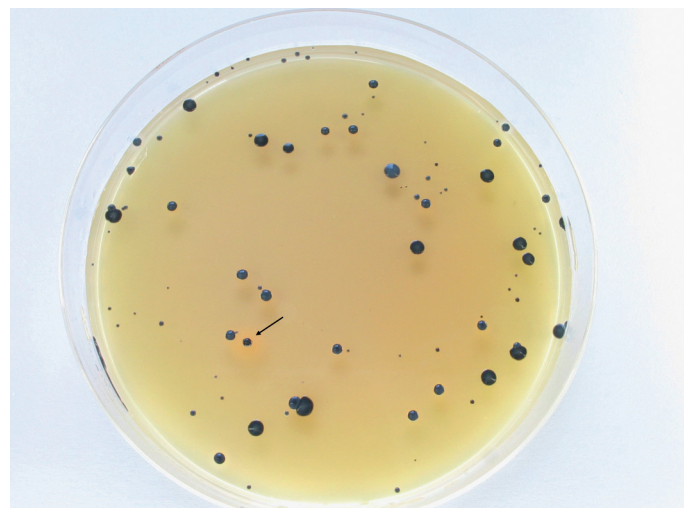
Anwendung zur Isolierung von *Staphylococcus aureus* aus Lebensmitteln.



### Baird Parker Agar Wildfleisch (Reh)

- Methode: Oberflächenspatelverfahren  
 Anbieter: z. B. Merck/VWR, bioMérieux, Heipha, Oxoid  
 Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in aerobem Milieu  
 Koloniemorphologie:
- Mischkultur
  - *Staphylococcus aureus*: kleine schwarze, glänzende Kolonien mit opakem Hof (Lecithinase), klarem Lysishof (Lipase) (siehe Pfeil)

Anwendung zur Isolierung von *Staphylococcus aureus* aus Lebensmitteln.



## VII.1 Rotfleisch und Fleischerzeugnisse

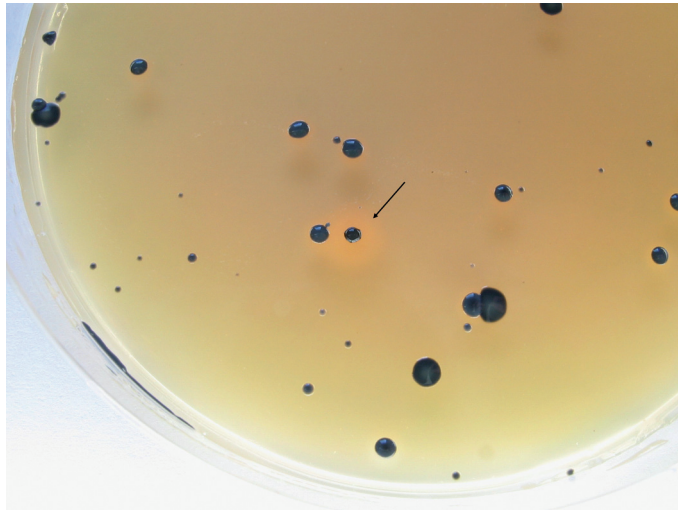
### Baird Parker Agar Wildfleisch (Reh), Ausschnittsvergrößerung

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
Anbieter: z. B. Merck/VWR, bioMérieux, Heipha, Oxoid  
Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Mischkultur
- *Staphylococcus aureus*: kleine schwarze, glänzende Kolonien mit opakem Hof (Lecithinase), klarem Lysishof (Lipase) (siehe Pfeil)

Anwendung zur Isolierung von *Staphylococcus aureus* aus Lebensmitteln.



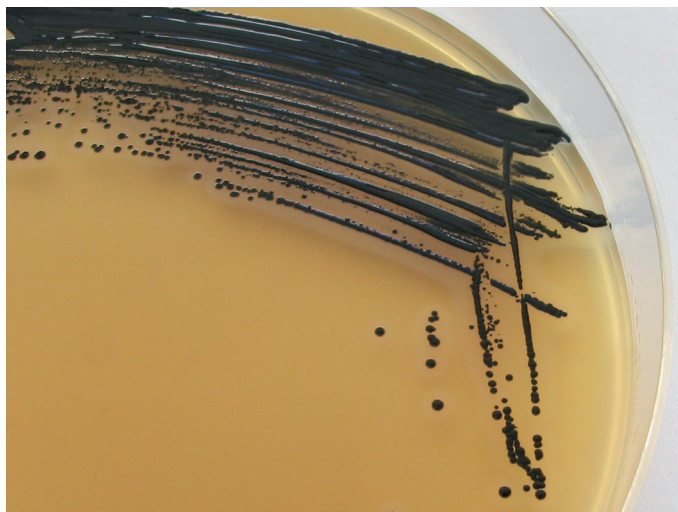
### Baird Parker Agar Wildfleisch (Reh), Subkultur

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
Anbieter: z. B. Merck/VWR, bioMérieux, Heipha, Oxoid  
Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Reinkultur
- *Staphylococcus aureus*: kleine schwarze, glänzende Kolonien mit opakem Hof (Lecithinase), klarem Lysishof (Lipase)

Anwendung zur Isolierung von *Staphylococcus aureus* aus Lebensmitteln.



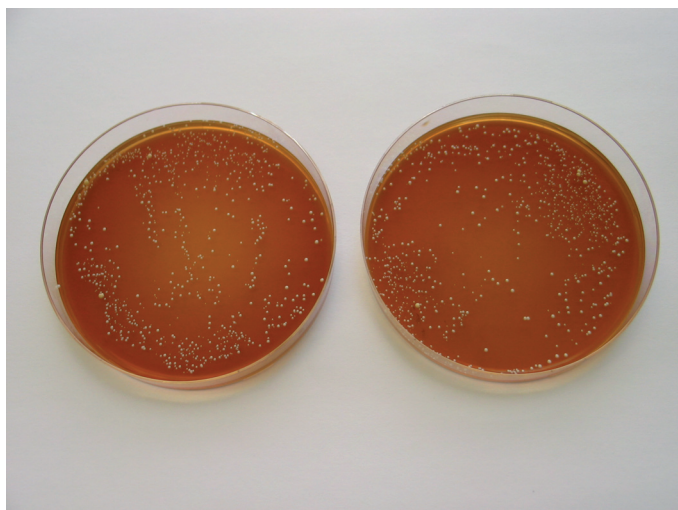
### MRS-Agar (Agar nach DE MAN, ROGOSA und SHARPE) Rohwurst

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
Anbieter: z. B. Merck/VWR, Heipha, Oxoid  
Inkubation: 30 °C +/- 1 °C für 72 h +/- 3 h in anaerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Mischkultur
- *Lactobacillus* spp. wachsen als kleine trübe, weiße Kolonien

Dargestellt sind zwei Platten einer Verdünnungsstufe.



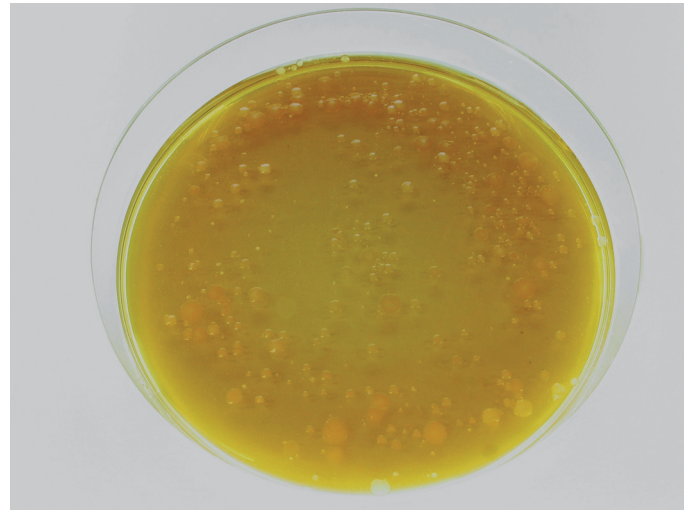


### ECD Agar Wildfleisch

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
 Anbieter: z. B. Merck/VWR, Heipha, Sifin  
 Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Mischkultur
- *E. coli*: Kolonien mit Fluoreszenz unter UV-Licht

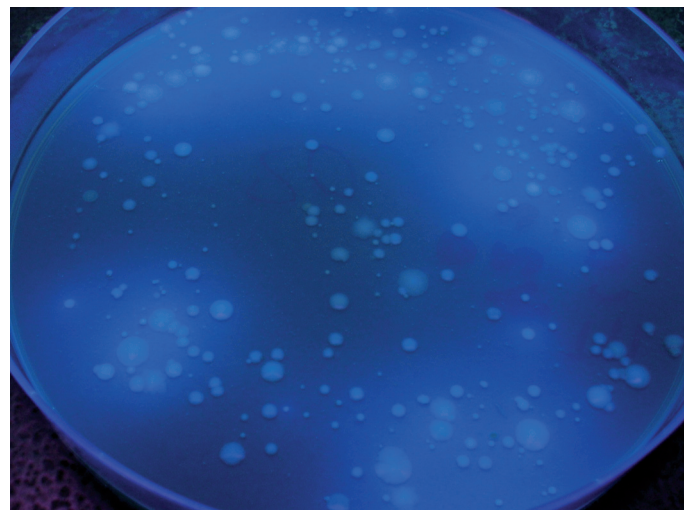


### ECD Agar Wildfleisch

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
 Anbieter: z. B. Merck/VWR, Heipha, Sifin  
 Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Mischkultur
- *E. coli*: Kolonien mit Fluoreszenz unter UV-Licht

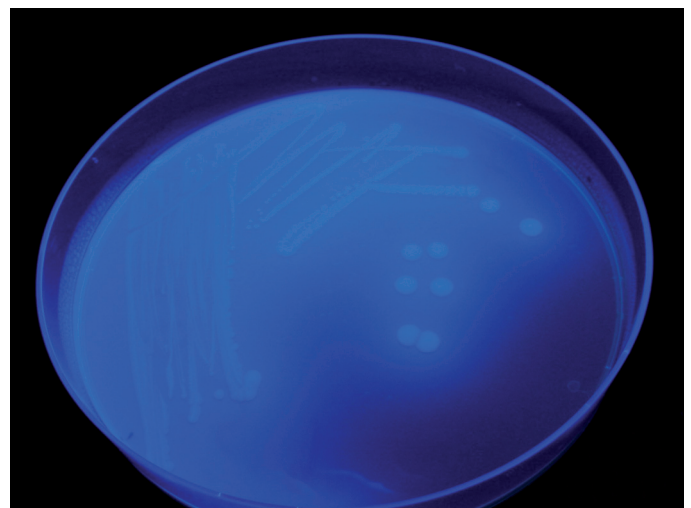


### ECD Agar Wildfleisch

Methode: Oberflächenspatelverfahren  
 Anbieter: z. B. Merck/VWR, Heipha, Sifin  
 Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 48 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Reinkultur (Isolat)
- *E. coli*: Weiße Kolonien mit Fluoreszenz unter UV-Licht





### BRILLIANCE *E. COLI*/COLIFORM SELECTIVE AGAR

Leere Platte

Anwendung: Agar zum Nachweis von *E. coli* und Coliformen aus Wasser und Lebensmittelproben

Methoden: Oberflächenspatelverfahren, Plattengussverfahren, Filter-Membran-Methode

Anbieter: Oxoid

Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 24 h +/- 2 h in aerobem Milieu



### BRILLIANCE *E. COLI*/COLIFORM SELECTIVE AGAR Fleischprobe (Rotfleisch)

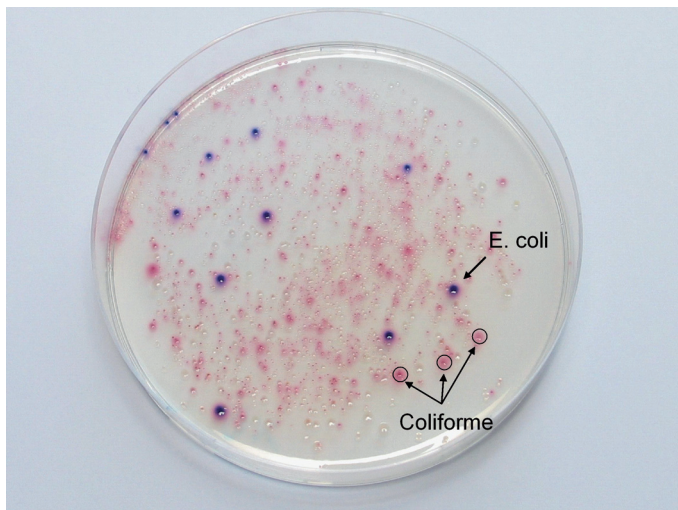
Methode: Oberflächenspatelverfahren

Anbieter: Oxoid

Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 24 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Mischkultur
- Coliforme wachsen pink (siehe Pfeile)
- *E. coli* wächst violett (siehe Pfeil)
- Andere Bakterien wachsen farblos



### BRILLIANCE *E. COLI*/COLIFORM SELECTIVE AGAR *E. coli* Subkultur (Wildfleisch)

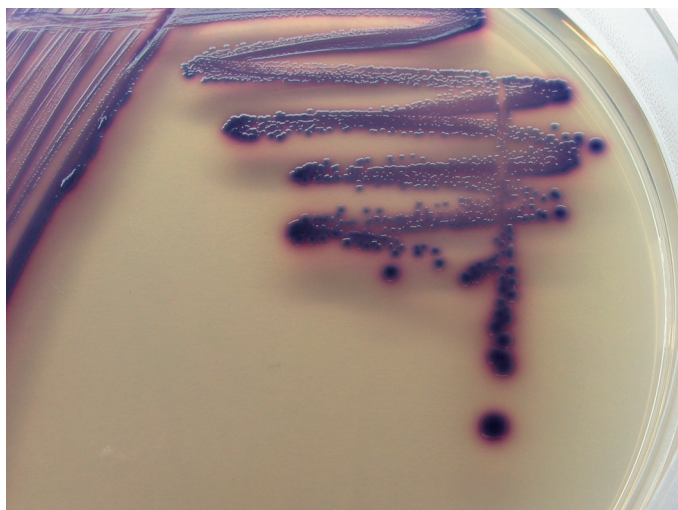
Methode: Oberflächenspatelverfahren

Anbieter: Oxoid

Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 24 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- *E. coli*: violette, flache Kolonien



### Coli ID Fleischprobe (Rotfleisch)

Methode: Oberflächenspatelverfahren

Anbieter: bioMérieux

Inkubation: 37 °C +/- 1 °C für 24 h +/- 2 h in aerobem Milieu

Koloniemorphologie:

- Mischkultur
- Coliforme wachsen grau – graublau
- *E. coli* wächst pink – violett (siehe Pfeile)

