



Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmittel

DI Erich Ziegelwanger

Inhalt



- ⌘ Grundsätze - aseptisches Arbeiten
- ⌘ Anlegen von Verdünnungsreihen
- ⌘ Koch'sches Gussplattenverfahren
- ⌘ Spatelverfahren
- ⌘ Auswertung Koch und Spatelverfahren
- ⌘ MPN-Verfahren
- ⌘ Auswertung MPN-Verfahren

Begriffe und Definition des aseptischen Arbeitens:

- ⌘ **Keim:** vermehrungsfähiger Mikroorganismus
- ⌘ **Steril:** frei von vermehrungsfähigen Mikroorganismen jeglicher Art (Phagen, Viren, Sporen miteinbezogen)
- ⌘ **Aseptisch:** arbeiten unter Bedingungen, die Fremdorganismen ausschalten
- ⌘ **Kontamination:** Anwesenheit von Fremdorganismen
- ⌘ **Desinfektion:** weitgehende Abtötung von Mikroorganismen auf Oberflächen
- ⌘ **Dekontamination:** weitgehende Abtötung von Mikroorganismen in Nährmedien
- ⌘ **Infektion:** Anwesenheit / Parasitierung eines Organismus durch einen anderen Organismus (patholog. Begriff)

Grundsätze – aseptisches Arbeitens 1

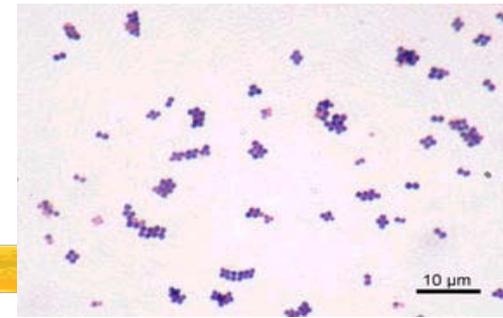


- ⌘ Fenster und Türen geschlossen halten
- ⌘ Arbeitsplatz und Umgebung mit Desinfektionslösung (70% Spiritus)
- ⌘ Husten und Niesen vermeiden
- ⌘ Ränder von Glasgefäßen vor und nach der Entnahme von Material in der entleuchteten Bunsenbrenner-Flamme abflammen

Grundsätze – aseptisches Arbeitens 2

- ⌘ Mundpipettieren ist strengstens verboten!
- ⌘ Pipetten nur am oberen Ende, am Mundstück, berühren
- ⌘ Gefäße nur so lange öffnen, wie unbedingt erforderlich ist und dabei das Gefäß möglichst schräg halten
- ⌘ Sterile Stopfen nur am oberen, aus dem Gefäß ragenden Teil anfassen (zwischen kleinen Finger und Handballen halten, nirgends mit dem sterilen Teil des Stopfens anstößt)

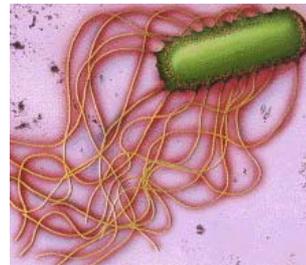
Identifizierung von MO



Form (Kokken-rund; Stäbchen-länglich)

Zellverband; Anordnung der Zellen
zueinander

Größe



Beweglichkeit; begeißelt – unbegeißelt

Gramverhalten

Sporenbildung

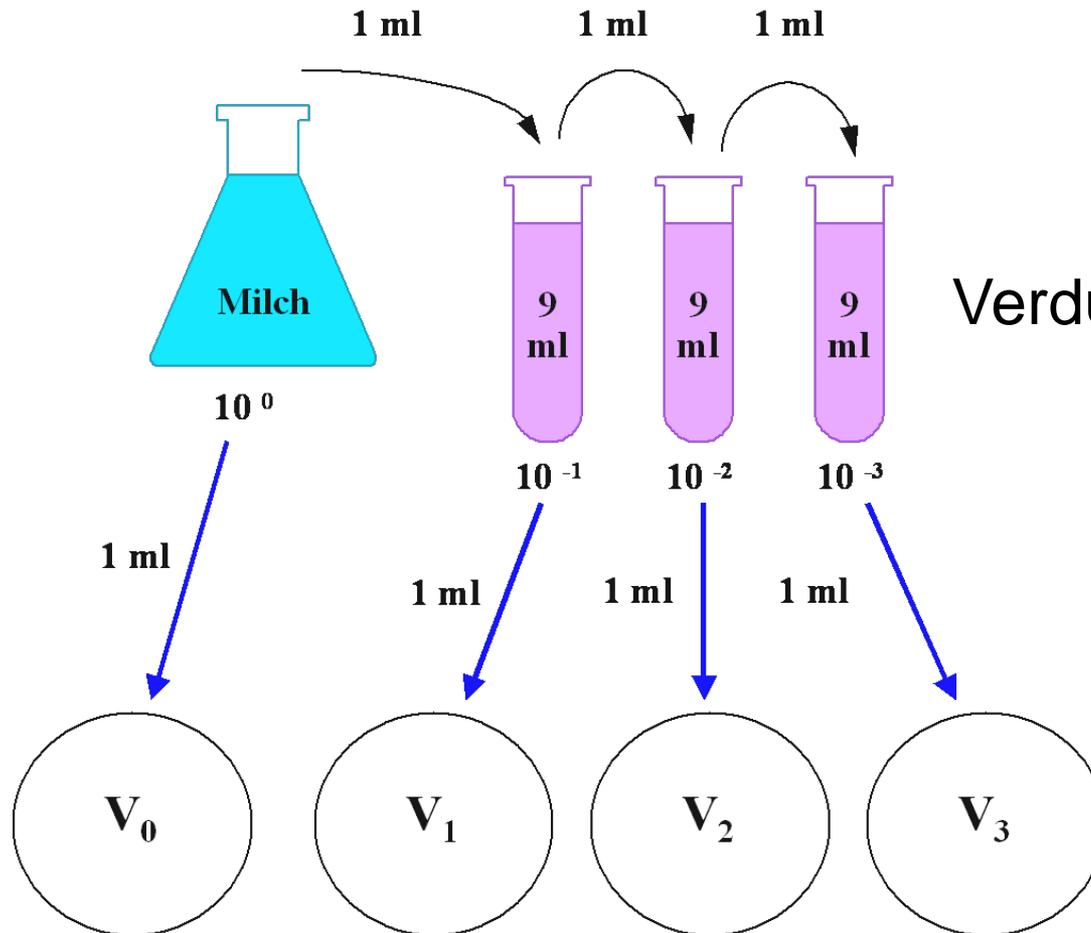


DI Erich Zieger



Methoden zur Sichtbarmachung - Nachweisverfahren

Verdünnungsreihe



Verdünnungsreihe

Koch'sches Gussplattenverfahren

- ⌘ Herstellen der Verdünnungsreihe
- ⌘ Beschriften der Platten:
 - ☒ Name, Datum, Probennummer, V, Untersuchungsparameter
- ⌘ Plattengießen: Agar (in Eproutetten oder Kölbchen) vollständig aufschmelzen (30 Minuten im Dampftopf) und im Wasserbad auf $47 \pm 2^\circ\text{C}$ abkühlen
- ⌘ Mischen des Nährbodens mit der Probe:
 - 8-schleifenförmige Bewegung
- ⌘ Bebrüten der Petrischalen:

Nach dem Erstarren des Nährbodens die umgedrehten Petrischalen (mit dem Boden nach oben) bei verschiedenen Temperaturen, abhängig von der optimalen Wachstumstemperatur der Organismen

Spatelverfahren



- ⌘ Herstellen der Verdünnungsreihe
- ⌘ Beschriften der Platten
- ⌘ Herstellung Agarplatten: etwa 15 ml des geschmolzenen Nährbodens in sterile Petrischalen überführen und verfestigen lassen
- ⌘ Platten vortrocknen: mit Agaroberfläche nach unten, schräg auf dem abgenommenen Deckel liegend, in einem Brutschrank ca. 30 min. bei 50°C
- ⌘ Spatelverfahren: beginnend mit höchster Verdünnung **0,1 ml** auf die Agarplatten pipettieren, mit einem sterilen Drigalski-Spatel wird die Menge gleichmäßig unter kreisenden Bewegungen verteilt
- ⌘ Bebrüten der Petrischalen

Auswertung – Koch/Spatel

⌘ Gußkultur und Spatelverfahren

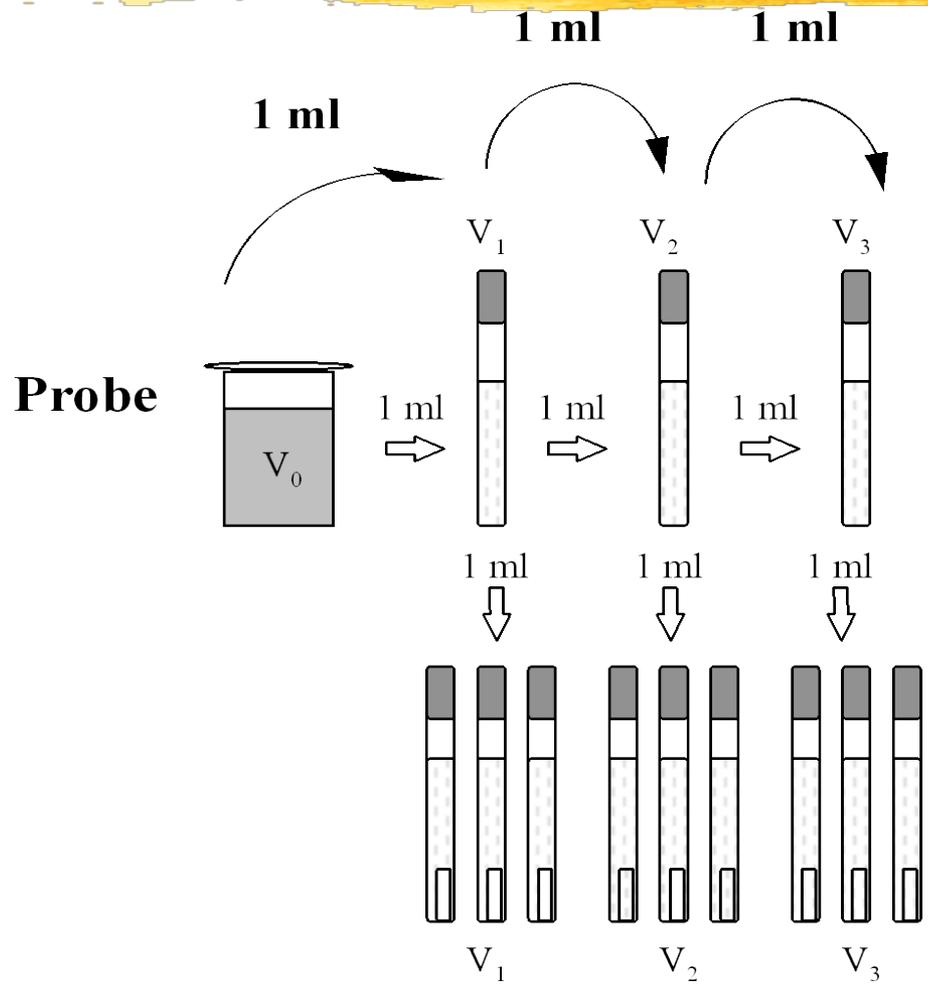
Anzahl der Mikroorganismen pro g oder ml

$$\Sigma c$$

$$\frac{\Sigma c}{(1 \times n_1 + 0,1 \times n_2)} \times d = \text{KBE/ml bzw. g}$$

- ⌘ KBE = Kolonie bildende Einheiten
- ⌘ Σc = Summe aller ausgezählten Kolonien
- ⌘ n_1 = Zahl der Platten der 1. Verdünnungsstufe
- ⌘ n_2 = Zahl der Platten der 2. Verdünnungsstufe
- ⌘ d = Verdünnungsstufe der ersten ausgezählten Platte(n)

Ermittlung der höchstwahrscheinlichen Keimzahl - Most probable number (MPN)



Auswertung - MPN



- ⌘ Röhrrchen werden hinsichtlich des Auftretens eines positiven Ergebnisses beurteilt
- ⌘ Ermittlung der Indexziffer (Stichzahl)
- ⌘ Berechnung der Keimzahl: MPN-Tabelle

Literatur



- ⌘ Mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel VO 2073/2005
- ⌘ Leitlinie über die mikrobiologischen Kriterien für Milch und Milchprodukte

http://www.bmg.gv.at/cms/site/attachments/5/1/5/CH0819/CMS1165222160466/leitlinie_milch-_und_milchprodukte.pdf