

## MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

### I EINFÜHRUNG

Motility Indole Ornithine (MIO) Medium (Indol-Ornithin-Beweglichkeitsmedium, MIO-Medium) ist ein halbfestes Medium für die Identifizierung von *Enterobacteriaceae*-Spezies.

### II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Vor Gebrauch die Kappen lockern, kochen\* und abkühlen.  
\*HINWEIS: Die Verwendung von Mikrowellengeräten wird nicht empfohlen.
2. Repräsentative Proben mit den im Folgenden aufgeführten Kulturen inokulieren.
  - a. Die Röhrrchen mit 10<sup>-1</sup>-Verdünnungen von 18 bis 24 h alten **Trypticase**-Soja-Bouillon-Kulturen inokulieren; dazu eine Impfnadel bis zu einer Tiefe von 0,6 cm über dem Boden des Mediums einstechen.
  - b. Die Röhrrchen mit gelockerten Kappen in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren.
3. Die Röhrrchen nach 18 bis 24 h im Hinblick auf Wachstum, Beweglichkeit und Ornithindecarboxylase- und Indol-Reaktionen untersuchen. Bei negativer Indol-Reaktion das Röhrrchen weitere 24 Std. lang inkubieren.
4. Zu erwartende Ergebnisse

	Beweglichkeit	Indol	Ornithin
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+	+
* <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	+	-	+
* <i>Klebsiella pneumoniae</i> Subsp. <i>pneumoniae</i> ATCC 33495	-	-	-
<i>Morganella morganii</i> ATCC 8019	+	+	+
<i>Salmonella enterica</i> Subsp. <i>enterica</i> Serotyp Typhi ATCC 19430	+	-	-

\* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für die Qualitätskontrolle durch den Anwender.

### III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrrchen untersuchen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrrchen visuell überprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Nicht inokulierte repräsentative Röhrrchen bei 20–25 °C und bei 30–35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen untersuchen.

## PRODUKTINFORMATIONEN

### IV VERWENDUNGSZWECK

Motility Indole Ornithine (MIO) Medium (Indol-Ornithin-Beweglichkeitsmedium, MIO-Medium) dient zum Nachweis von Beweglichkeit, Indolproduktion und Ornithindecarboxylase-Aktivität zum Zwecke der Differenzierung von *Enterobacteriaceae*.

### V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Ederer und Clark<sup>1</sup> sowie Oberhofer und Hajkowski<sup>2</sup> formulierten das Indol-Ornithin-Beweglichkeitsmedium zum Nachweis der Beweglichkeit und der Indol- und Ornithindecarboxylase-Produktion in einem Röhrrchen als Hilfsmittel für die Identifizierung von *Enterobacteriaceae*-Spezies.

## VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Casein- und Gelatine-Peptide, Hefeextrakt und Dextrose stellen stickstoff- und kohlenstoffhaltige Substanzen, Vitamine und Mineralien bereit, welche für den Bakterienstoffwechsel erforderlich sind. Bei Vorliegen von Ornithindecaboxylase wird das Ornithin zu Putrescin decarboxyliert, was zum Anstieg des pH-Werts und damit zu einem Farbumschlag des Bromkresolpurpur von gelb zu purpur führt.

## VII REAGENZIEN

### Motility Indole Ornithine Medium

Ungefähre Zusammensetzung\* je 1 L destilliertes Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein .....	9,5	g
Pankreatisch abgebaute** Gelatine .....	10,0	g
Hefeextrakt .....	3,0	g
Dextrose .....	1,5	g
L-Ornithin-Monohydrochlorid .....	5,0	g
Bromkresolpurpur .....	0,02	g
Agar .....	2,0	g

\*Nach Bedarf auf die Leistungskriterien abgestimmt und/oder ergänzt.

### Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

*In-vitro*-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest angebrachten Kappen sollten vorsichtig geöffnet werden, um Verletzungen durch Glasbruch zu vermeiden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Anwendung aseptischer Techniken erfolgen. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach ihrer Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

### Aufbewahrung

Die Röhrchen nach Erhalt bei 2–25 °C im Dunkeln lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. In den Röhrchen gemäß Kennzeichnung aufbewahrte Medien können bis zum Verfallsdatum inokuliert und für die empfohlene Zeitdauer inkubiert werden.

### Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen mit Anzeichen von Kontamination durch Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

## VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen der einschlägigen Fachliteratur entnehmen.<sup>3,4</sup> Die Proben sollten vor der Anwendung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

## IX VERFAHREN

### Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Motility Indole Ornithine (MIO) Medium

### Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

### Testverfahren

Aseptisch vorgehen.

Vor dem Inokulieren die Kappen lockern, das Medium zum Kochen bringen\* und auf Raumtemperatur abkühlen. Die Medienröhrchen durch einen Einstich bis zu einer Tiefe von 0,6 cm über dem Röhrchenboden mit Wachstum von einer Erstisierungsplatte oder einer sonstigen Reinkultur inokulieren. Alle Röhrchen 18 bis 24 h lang bei 35 ± 2 °C in aerober Atmosphäre inkubieren.

\***HINWEIS:** Die Verwendung von Mikrowellengeräten wird nicht empfohlen.

### Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Anwender sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

## X ERGEBNISSE

Die Beweglichkeit und Decarboxylase-Aktivität vor der Zugabe des Reagenzes für den Nachweis der Indolproduktion bestimmen.

1. Die Beweglichkeit ist ersichtlich aus von der Inokulationslinie ausgehenden Wachstumsauswüchsen. Bewegungsunfähige Mikroorganismen wachsen lediglich entlang der Inokulationslinie.
2. Die Decarboxylierung von Ornithin ist ersichtlich aus der Ausbildung einer trüben Purpur- bis Gelb-Purpur-Färbung. Bei gelber Farbe ist die Reaktion negativ.
3. Die Indolproduktion ist ersichtlich aus der Entwicklung einer rosa bis roten Farbe nach Aufbringen von drei oder vier Tropfen Kovác-Reagenz auf die Oberfläche des Mediums und sanftem Rütteln. Bei Gelbfärbung ist die Reaktion negativ.

Angaben zu den von verschiedenen *Enterobacteriaceae*-Spezies hervorgerufenen typischen Reaktionen der Fachliteratur entnehmen.<sup>3-5</sup>

## XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zur Identifizierung muss der Mikroorganismus in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sind morphologische, biochemische und/oder serologische Tests erforderlich. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.<sup>3-7</sup>

## XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Motility Indole Ornithine (MIO) Medium (Indol-Ornithin-Beweglichkeitsmedium, MIO-Medium) auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Vor Gebrauch werden repräsentative Proben der Charge bei gelockerten Kappen in ein kochendes Wasserbad gegeben und anschließend abgekühlt, sodass die halb feste Konsistenz des Mediums wieder hergestellt wird. Die Röhrchen werden durch Einstechen einer Impfnadel bis zu einer Tiefe von 0,6 cm über dem Röhrchenboden mit 10<sup>-1</sup> verdünnten Kulturen von *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Morganella morganii* (ATCC 8019), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 33495) und *Salmonella* Typhi (ATCC 19430) auf **Trypticase-Soja-Bouillon** inokuliert. Die Röhrchen werden mit gelockerten Kappen bei 35 ± 2 °C inkubiert. Nach 18 bis 24 Inkubationsstunden werden die Röhrchen im Hinblick auf das Ausmaß des Wachstums und auf Ornithindecarboxylase überprüft. Alle Kulturen zeigen mäßiges bis starkes Wachstum. Alle Kulturen zeigen Beweglichkeit, was aus von der Inokulationslinie ausgehenden Wachstumsauswüchsen im gesamten Medium ersichtlich ist – mit Ausnahme von *K. pneumoniae*, die unbeweglich sind und Wachstum nur entlang der Inokulationslinie zeigen. *E. aerogenes*, *E. coli* und *M. morganii* sind positiv für Ornithindecarboxylase, was aus einer trüben Purpur- bis blassen Gelbfärbung ersichtlich ist, während *K. pneumoniae* und *Salmonella* Typhi negativ sind, was aus einer gelben Farbe ersichtlich ist. Anschließend werden für den Test auf Indolproduktion 3 bis 4 Tropfen Kovác-Reagenz auf die Oberfläche jedes Röhrchens gegeben. *E. coli* und *M. morganii* sind positiv für Indolproduktion, was aus der Entwicklung einer rosa bis roten Farbe im Medium ersichtlich ist. *E. aerogenes*, *K. pneumoniae* und *Salmonella* Typhi sind negativ für Indolproduktion, sodass keine Reaktion (keine Farbänderung) im Medium erfolgt.

## XIII LIEFERBARE PRODUKTE

### Best.- Nr. Beschreibung

- |        |  |
|--------|--|
| 221517 | <b>BD BBL</b> Motility Indole Ornithine (MIO) Medium, 5 mL, Packung zu 10 Röhrchen der Größe K |
| 221518 | <b>BD BBL</b> Motility Indole Ornithine (MIO) Medium, 5 mL, Karton zu 100 Röhrchen der Größe K |

## XIV LITERATUR

1. Ederer, G.M., and M. Clark. 1970. Motility-indole-ornithine medium. Appl. Microbiol. 2:849-850.
2. Oberhofer, T.R., and R. Hajkowski. 1970. Evaluation of non-lactose-fermenting members of the *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* division: I. Biochemical characteristics. Am. J. Clin. Pathol. 54:720-725.

3. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
5. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., New York.
6. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
7. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification, p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder [www.bd.com/ds](http://www.bd.com/ds).



Becton, Dickinson and Company  
7 Loveton Circle  
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited  
Pottery Road, Dun Laoghaire  
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.  
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD