

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE**I EINFÜHRUNG**

Nutrient Agar ist ein Mehrzweckmedium für die Kultivierung einer Vielzahl von Bakterien.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Nutrient Agar in A-Röhrchen durch Erhitzen in kochendem Wasser verflüssigen. Auf 45 bis 50 °C abkühlen lassen und in Petrischalen gießen. Wenigstens 30 Minuten verfestigen lassen.
2. Den Agar für die Gewinnung von isolierten Kolonien mit einer für 0,01 mL kalibrierten Impföse auf der Platte ausstreichen. Bei Schrägagar in Röhrchen die Agarflächen mit einer Impföse voll Inokulum inokulieren. Für die weitere Arbeit werden Verdünnungen im Verhältnis 1 : 10 von Kulturen der unten aufgeführten Organismen auf **Trypticase** Soy Broth, inkubiert über 18 bis 24 Stunden verwendet.
3. Platten oder Röhrchen bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren. Bei Röhrchenmedien sollten die Verschlusskappen gelöst werden.
4. Die Platten oder Röhrchen nach 18 bis 24 Stunden hinsichtlich der Wachstumsmenge überprüfen.
5. Zu erwartende Ergebnisse

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	Mäßiges bis starkes Wachstum, grün Pigmentierung
* <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Mäßiges bis starkes Wachstum
* <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Mäßiges bis starkes Wachstum, cremefarbene bis goldfarbene Kolonien

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben begutachten.
2. Röhrchen stichprobenweise visuell auf Beschädigungen und Unregelmäßigkeiten überprüfen, um sicherzustellen, dass diese die spätere Nutzung nicht beeinträchtigen können.
3. Nicht inokulierte Röhrchen stichprobenweise bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen überprüfen.

PRODUKTINFORMATIONEN**IV VERWENDUNGSZWECK**

Nutrient Agar dient zur Kultivierung von Bakterien sowie für den quantitativen Nachweis von Organismen in Wasser, Abwasser, Stuhl und anderen Substanzen.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts veröffentlichte die American Public Health Association die Formel für ein Mehrzweckmedium für die Kultivierung einer Vielzahl nichtselektiver Mikroorganismen.¹ Die APHA unterstrich dadurch den Bedarf an einem standardisierten Medium für Untersuchungen von Wasser- und Abwasserproben sowie Proben von Milchprodukten und zahlreichen anderen Nahrungsmitteln. Die relativ einfache Formulierung hat sich bewährt und ist auch heute noch unter der Bezeichnung Nutrient Agar (Nähragar) in den aktuellen Kompendien der Methoden zur mikrobiologischen Untersuchung einer Vielzahl von Stoffen angegeben.²⁻⁵ Darüber hinaus wird sie im Labor für die Kultivierung und den Erhalt nichtselektiver Spezies verwendet.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Nutrient Agar besteht aus Pepton, Rindfleischextrakt und Agar. Diese relativ einfache Formulierung liefert die erforderlichen Nährstoffe für die Replikation einer großen Anzahl an nicht übermäßig selektiven Mikroorganismen. Der Rindfleischextrakt enthält wasserlösliche Substanzen wie Kohlenhydrate, Vitamine, organische Stickstoffverbindungen und Salze. Peptone sind die Primärquelle für den Stickstoff in organischen Stickstoffverbindungen wie Aminosäuren und langkettigen Peptiden. Agar ist das Verfestigungsmittel.

VII REAGENZIEN

Nutrient Agar

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser	
Pankreatisch abgebaute** Gelatine.....	5,0 g
Rindfleischextrakt	3,0 g
Agar	15,0 g

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, 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 Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 25 °C im Dunkeln aufbewahren. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. In Röhrchen vorschriftsmäßig aufbewahrte Nährböden können bis zum Verfallsdatum inokuliert und über die empfohlene Zeit inkubiert werden. Vor Lichteinwirkung schützen.

Haltbarkeit des Produkts

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

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen enthält die entsprechende Fachliteratur.^{6,7} Die Proben sollten vor der Gabe von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Nutrient Agar

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Antiseptische Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Den in den A-Röhrchen enthaltenen Agar verflüssigen, auf 45 – 50 °C abkühlen lassen und in Petrischalen gießen. Wenigstens 30 Minuten verfestigen lassen. Die Probe nach dem Eingang im Labor schnellstmöglich ausstreichen. Die Ausstrichplatte dient primär zur Isolierung von Reinkulturen aus Proben mit Mischflora. Wenn das Material direkt von einem Abstrich kultiviert wird, alternativ den Abstrichtupfer über einen kleinen Oberflächenbereich am Rand rollen; dann von diesem inokulierten Bereich aus ausstreichen. Die Platten 18 bis 24 Stunden lang – bei Bedarf auch 42 bis 48 Stunden lang – bei 35 ± 2 °C inkubieren.

Röhrchen mit Schrägagar dienen primär zur Kultivierung und Erhaltung von Reinkulturen. Die Röhrchen sollten mit einer Inokulations-Impföse inokuliert und unter denselben Bedingungen wie das Agarmedium inkubiert werden.

Qualitätssicherung durch den Anwender

Siehe „Qualitätskontrollverfahren“.

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

X ERGEBNISSE

Nach der Inkubation zeigen die meisten Platten einen Bereich mit konfluentem Wachstum. Da es sich bei dem Ausstrichverfahren eigentlich um eine „Verdünnungsmethode“ handelt, werden geringere Mengen von Mikroorganismen auf den Ausstrichbereichen positioniert. Folglich sollten ein oder mehrere dieser Bereiche isolierte Kolonien des in der Probe enthaltenen Organismus enthalten. Darüber hinaus kann das Wachstum jedes Organismus auf der Grundlage des Wachstums in den Ausstrichbereichen semiquantitativ erfasst werden.

Wachstum aus mit Reinkulturen inokulierten Röhrchen kann für biochemische oder serologische Tests verwendet werden.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zum Nachweis müssen die Organismen in Reinkultur vorhanden sein. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.⁶⁻⁸

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Nutrient Agar Slants (Nährschrägar) auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Mit einer für 0,01 mL kalibrierten Impföse werden repräsentative Proben der Charge gründlich (3 Impfösen voll) inokuliert, und zwar mit Kulturen von *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Shigella flexneri* (ATCC 12022) und *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) auf **Trypticase-Sojaagar**, verdünnt auf 10¹. Die inokulierten Behälter mit gelösten Verschlüssen bei 35 ± 2 °C inkubieren. Die Behälter nach 18 bis 24 Stunden auf Wachstum und Pigmentierung überprüfen. Alle Kulturen zeigen mäßiges bis starkes Wachstum; die Kolonien von *P. aeruginosa* zeigen eine grüne Pigmentierung; die Kolonien von *S. aureus* sind creme- bis goldfarben.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr. Beschreibung

220971 **BD BBL** Nutrient Agar Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K

298235 **BD BBL** Nutrient Agar Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe D

220968 **BD BBL** Nutrient Agar Deeps (Pour Tubes), 20 mL, Packung mit 10 Röhrchen der Größe A

XIV LITERATUR

1. American Public Health Association. 1917. Standard methods of water analysis, 3rd ed. American Public Health Association, New York.
2. U.S. Food and Drug Administration. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
3. Clesceri, L.S., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (ed.). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
4. Horwitz, W. (ed.). 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed, vol.1. AOAC International, Gaithersburg, MD.
5. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. 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.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. 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.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder 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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.