

### MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

#### I EINFÜHRUNG

OF Basal Medium wird unter Zusatz eines geeigneten Kohlenhydrats zur Bestimmung der oxidativen und fermentativen Stoffwechselaktivitäten gramnegativer Bazillen verwendet.

#### II TESTDURCHFÜHRUNG

1. Verschlusskappen lösen und vor der Verwendung das Medium ca. 2 min im kochenden Wasserbad\* abkochen. Auf Raumtemperatur abkühlen lassen.  
 \*HINWEIS: Die Verwendung von Mikrowellengeräten wird nicht empfohlen.
2. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
  - a) Zwei Röhrchen jedes Mediums inokulieren. Hierzu eine gerade Kanüle einmal bis fast auf den Röhrchenboden in das Medium einstechen. 18- bis 24-h Kulturen auf **Trypticase-Soja-Agar** mit 5 % Schafblut (TSA II) als Inokulat verwenden.
  - b) Ein Röhrchen jedes Paares mit 1,0 mL sterilem Mineralöl bedecken. Nicht inokulierte Kontrollröhrchen (unbedeckt und bedeckt) mittesten.
  - c) Die Röhrchen bei  $35 \pm 2$  °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren.
3. Die Röhrchen nach 18 bis 24 und 42 bis 48 h auf Wachstum und Reaktionen untersuchen.
4. Zu erwartende Ergebnisse

Medium	Organismus	ATCC	Reaktion	
			Unbedeckt	Mit Öl bedeckt
OF Basal Medium	* <i>Acinetobacter baumannii</i>	19606	–	–
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	–	–
	* <i>Shigella sonnei</i>	9290	–	–
OF with Dextrose	* <i>Alcaligenes faecalis</i>	19018	–	–
	* <i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	S	S
	* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	S	–
	* <i>Shigella sonnei</i>	9290	S	S

Legende:

S = sauer (gelb),

– = unverändert (grün) oder alkalisch (blau)

\*Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

#### III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrchen untersuchen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen sichtsicher prüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Den pH-Wert potentiometrisch bei Raumtemperatur bestimmen. Er sollte innerhalb der Spezifikation liegen:  $6,8 \pm 0,1$  für OF Medium mit Dextrose bzw.  $6,8 \pm 0,2$  für OF Basal Medium.
4. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bei  $20 - 25$  °C und bei  $30 - 35$  °C inkubieren und nach 7 Tagen im Hinblick auf Kontamination durch Mikroorganismen untersuchen.

### PRODUKTINFORMATIONEN

#### IV VERWENDUNGSZWECK

OF-Medien (Oxidations-/Fermentationsmedien) dienen zur Bestimmung des oxidativen und fermentativen Kohlenhydratmetabolismus durch gramnegative Stäbchen auf der Basis von Säurereaktionen entweder in offenen oder in geschlossenen Systemen.

#### V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Das OF-Medium wurde von Hugh und Leifson entwickelt, die die taxonomische Signifikanz des fermentativen im Vergleich zum oxidativen Kohlenhydratmetabolismus durch gramnegative Bakterien beschrieben.<sup>1</sup> Sie demonstrierten, dass sich bei einem Organismus, der in zwei Röhrchen mit OF Basal Medium inokuliert wird, wobei eines der Röhrchen mit einem Kohlenhydrat und dem Medium vor der Inkubation mit geschmolzenem Petrolat bedeckt wird, die Stoffwechsellmuster signifikant unterscheiden. Oxidative Organismen verursachen nur eine Säurereaktion im offenen Röhrchen und nur geringes bzw. kein Wachstum und keine Säurebildung im bedeckten Röhrchen. Fermentative Organismen verursachen eine Säurereaktion in beiden Röhrchenarten.

Veränderungen im verschlossenen Agar werden auf eine echte Fermentation zurückgeführt, wohingegen Veränderungen in den offenen Röhrchen auf Grund der oxidativen Verwertung des vorhandenen Kohlenhydrats auftreten. Wird das Kohlenhydrat bei keiner der Methoden verwertet, kommt es in keinem der Röhrchen zu einer Säurebildung.

## VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Das Medium enthält – relativ zur Peptonkonzentration – eine hohe Konzentration an zugesetzten Kohlenhydraten, um die Verwertung von Pepton durch einen aeroben Organismus und die resultierende alkalische Reaktion zu vermeiden, welche die von einem oxidativen Organismus verursachte, leichte Säure neutralisieren würde.<sup>2</sup> Das Dikaliumphosphat verleiht dem Medium eine Pufferkapazität. Der Agar ermöglicht die Bestimmung der Beweglichkeit und unterstützt die gleichmäßige Verteilung der an der Oberfläche des Mediums produzierten Säure.<sup>3</sup>

Dextrose ist das wichtigste Kohlenhydrat, welches in OF Basal Medium Verwendung findet; bestimmte Organismen können jedoch auch andere Kohlenhydrate metabolisieren, selbst wenn sie Dextrose nicht verwerten können.

## VII REAGENZIEN

### OF Basal Medium

Ungefähre Zusammensetzung\* pro L destilliertem Wasser

Pankreatisch abgebautes Casein .....	2,0	g
Natriumchlorid .....	5,0	g
Dikaliumphosphat .....	0,3	g
Agar .....	2,5	g
Bromthymolblau .....	0,03	g

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

OF Medium with Dextrose enthält die oben angeführten Komponenten, sowie 10,0 g Dextrose pro Liter.

**Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:** *In-vitro*-Diagnostikum.

Röhrchen mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen auf Grund von Glasbruch zu vermeiden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung aseptischer Arbeitsweise und der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen erfolgen. Vorbereitete Röhrchen, Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklav sterilisieren und erst dann entsorgen.

**Aufbewahrung:** Die Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 8 °C im Dunkeln lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Gemäß der Kennzeichnung in Röhrchen aufbewahrte Medien können bis zum Verfallsdatum inokuliert und für die empfohlene Inkubationsdauer inkubiert werden.

**Haltbarkeit des Produkts:** Röhrchen bei Anzeichen von Kontamination durch andere Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

## VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Dieses Produkt ist nicht zur direkten Verwendung mit Proben oder Mischkulturen vorgesehen. Die zu untersuchenden Organismen müssen zuerst in Reinkultur vorliegen.

## IX VERFAHREN

**Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** OF Basal Medium oder OF Medium with Dextrose

**Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

**Testverfahren:** Aseptisch vorgehen.

Verschlusskappen lösen und vor der Verwendung das Medium ca. 2 min im kochenden Wasserbad\* abkochen. Auf Raumtemperatur abkühlen lassen.

Mit jedem zu testenden Organismus ein Paar OF-Röhrchen inokulieren. Eine Inokulationskanüle mit einem schwachen Inokulum ca. 0,6 cm über dem Röhrchenboden einstechen. Jeweils ein Röhrchen jedes Paares mit 1,0 mL sterilem Mineralöl bedecken. Nicht inokulierte Kontrollröhrchen (unbedeckt und bedeckt) mittesten.

Die Röhrchen 48 h lang bei 35 ± 2 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren. Frühestens 4 Tage nach der Inkubation darf das Röhrchen als negativ entsorgt werden.

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

**Qualitätssicherung 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. Benutzer sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

Eine Einzelelektrode, deren Durchmesser klein genug für die Röhrchen ist, sollte verwendet werden, um den pH-Wert von Medien in Röhrchen potentiometrisch zu ermitteln. Die Elektrodenspitze sollte mittig in der Agarmasse (halbfestes Medium) positioniert werden.

## X ERGEBNISSE

Die Ergebnisse als sauer (S), alkalisch bzw. unverändert (–) erfassen. Darüber hinaus verzeichnen, ob der Organismus beweglich ist, was sich anhand eines von der Inokulationslinie wegführenden Wachstumsverlaufs erkennen lässt. Typische Reaktionsmuster sind folgende.<sup>2,3</sup>

Reaktion	Röhrchen mit Reaktion	Offenes Röhrchen	Bedecktes Röhrchen
Oxidation (O)	offen	gelb (S)	grün (–)
Fermentation (F)			
anaerogen	bedeckt	gelb (S)	gelb (S)
aerogen	bedeckt	gelb (S)	gelb (S)
Weder Oxidation noch Fermentation (–)	weder noch*	blau oder grün (–)	grün (–)
Sowohl Oxidation als auch Fermentation (O/F)	beides	gelb (S)	gelb (S)

S = Säureproduktion

– = keine Änderung oder alkalisch

\* = Kontrollmessung; Kohlenhydrat, nicht inokuliert; keine Farbänderung.

## XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN<sup>4</sup>

Die von oxidativen Organismen bewirkte Säurereaktion ist zunächst an der Oberfläche erkennbar und erstreckt sich nach und nach auf das gesamte Medium. Wo die Oxidation schwach oder langsam verläuft, ist zunächst eine alkalische Reaktion an der Oberfläche des offenen Röhrchens zu beobachten, die dort mehrere Tage vonstatten geht, jedoch schließlich sauer wird.

Nicht saccharolytische Organismen bewirken im offenen Röhrchen eine leichte Alkalinität (blaugrüne Farbe), das verschlossene Röhrchen zeigt hingegen keine Farbveränderung (grün).

Zur Identifizierung müssen die Organismen in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische und/oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.<sup>2,5-7</sup>

## XII LEISTUNGSMERKMALE

### OF Basal Medium

Vor der Freigabe werden alle OF Basal Medium-Chargen im Hinblick auf spezifische Produkteigenschaften geprüft. Proben werden durch unmittelbares Beimpfen zweier Röhrchen des Mediums mit 18 bis 14 h altem Kulturwachstum von *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Shigella sonnei* (ATCC 9290) und *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145) auf **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood** inokuliert. Ein Röhrchen jedes Organismus mit 1 mL Mineralöl bedecken. Die Röhrchen werden mit locker aufgesetzten Kappen in einer aeroben Atmosphäre 2 Tage lang bei 35 – 37 °C inkubiert. Bei keinem der Organismen kommt es (mit oder ohne Mineralöl) zu einem Farbumschlag.

### OF Medium with Dextrose

Kantor et al. entwickelten ein schnelles und vereinfachtes, mindestens drei Tests und maximal sieben Tests umfassendes Schema, mit dem Labors routinemäßig gramnegative Non-Fermenter identifizieren konnten. Mit diesem Schema wurden insgesamt 229 unbekannte gramnegative Non-Fermenter und 14 Referenzstämme identifiziert. Neben Oxidase- und Beweglichkeitstests wurde OF Basal Medium with Glucose (Dextrose) als ein primärer Test zur Unterteilung der Non-Fermenter eingesetzt. OF-Glucose diente zur Unterstützung der Speziation von *Acinetobacter*. Bei unbeweglichen, oxidase-positiven Organismen wurde OF-Glucose zur Unterstützung der Differenzierung von *Moraxella* sp. und *Flavobacterium* sp. herangezogen. OF-Glucose wurde zur Differenzierung von *Pseudomonas alcaligenes* von anderen oxidase-positiven, beweglichen *Pseudomonas*-Spezies eingesetzt.<sup>8</sup>

## XIII LIEFERBARE PRODUKTE

### Best.- Nr. Beschreibung

221326	<b>BD BBL</b> OF Basal Medium, Packung zu 10 Röhrchen der Größe K
221328	<b>BD BBL</b> OF Medium with Dextrose, Packung zu 10 Röhrchen der Größe K
221329	<b>BD BBL</b> OF Medium with Dextrose, Karton zu 100 Röhrchen der Größe K

#### XIV LITERATUR

1. Hugh, R., and E. Leifson. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.* 66:24-26.
2. MacFaddin, J.F. 2000. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
3. MacFaddin, J.F. 1985. *Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria*, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Shigei, J. 1992. Test methods used in the identification of commonly isolated aerobic gram-negative bacteria. Oxidation-fermentation test, p. 1.19.50-1.19.53. *In* H.D. Isenberg (ed.), *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Miller, J.M., H.T. Holmes, and K. Krisher. 2003. General principles of specimen collection and handling, p. 55-66. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
7. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 5th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.
8. Kantor, L.T., S.D. Kominos, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Am. J. Med. Technol.* 41:3-9.

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