

Mikrobiologie

Geobacillus stearothermophilus-Sporensuspension

für den Antibiotika-Sulfonamide-Rückstandstest nach KUNDRAT

Inhalt: Packung mit 5 Ampullen zu 2 ml

Verwendung

Geobacillus stearothermophilus-Sporensuspension wird mit dem Testagar für den Antibiotika-Sulfonamide-Rückstandstest nach KUNDRAT Art.-Nr. 1.10662. zum quantitativen Nachweis von antimikrobiellen Rückständen, wie Antibiotika, Sulfonamide und andere Chemotherapeutika, in Fleisch und anderen vom Tier stammenden Lebensmitteln im Routineverfahren verwendet.

Prinzip

Der Test wird als Agardiffusionstest ausgeführt. Als Testorganismen dienen Sporen von Geobacillus stearothermophilus. Durch Antibiotika- und Sulfonamid-Rückstände wird das Wachstum des Testkeimes gehemmt. Die Wachstumshemmung wird durch Hemmhöfe angezeigt. Die Hemmhöfe bleiben purpurfarben, die übrige bewachsene Nährbodenfläche schlägt nach Gelb um. Reinigungs-, Desinfektions- und Konservierungsmittel werden mit dem Test nicht erfaßt.

Geräte

Autoklav oder Dampftopf, Brutschrank.

Hilfsmittel

Petrischale oder sonstige Nährbodenschale mit Deckel.

Filterpapierblättchen mit 6 mm Durchmesser, geeignet zur Aufnahme von Wasser in der doppelten Menge des Eigengewichtes.

Reagenzien

Geobacillus stearothermophilus-Sporensuspension, eingestellt auf einen Gehalt von 10^8 KBE/ml (Streubreite: $7 \cdot 10^7$ bis $3 \cdot 10^8$ KBE/ml).

Testagar für den Antibiotika-Sulfonamide-Rückstandstest nach KUNDRAT Art.-Nr. 1.10662.

| Zusammensetzung | (g pro Liter) |
|------------------|---------------|
| Peptone | 17,0 |
| Natriumchlorid | 3,0 |
| D(+)-Glucose | 3,0 |
| Saccharose | 2,0 |
| Stärke | 3,0 |
| Gelatine | 2,5 |
| Bromkresolpurpur | 0,016 |
| Agar-Agar | 10,0 |

Bereitung des gebrauchsfertigen Testagars

8,0 g des Nährbodenpulvers werden in 200 ml frisch destilliertem oder vollentsalztem Wasser suspendiert und etwa 15 Minuten eingeweicht. Danach wird bis zum vollständigen Auflösen im Dampftopf oder Wasserbad gekocht. Anschließend wird autoklaviert (15 Minuten bei 121 °C). Nach Abkühlung auf weniger als 60 °C werden 2 ml Geobacillus stearothermophilus-Sporensuspension (Inhalt einer Ampulle, vor dem Öffnen umschütteln) eingemischt. Dann werden Platten gegossen (5 ml pro Petrischale).

pH-Wert des gebrauchsfertigen Nährbodens bei 25 °C: $6,8 \pm 0,2$.

Aufbewahrung des gebrauchsfertigen Testagars

Der gebrauchsfertige, in Petrischalen mit luftdichtem Klebeband verschlossene Testagar kann im Kühlschrank (+2 bis +8 °C) bis zu 3 Monate aufbewahrt werden.

Der unter den gleichen Bedingungen gehaltene, zur Durchführung des Schnelltests vorbebrütete Testagar (135 Minuten bei 65 °C) kann bis zu einem Monat aufbewahrt werden. Eine zusätzliche Verpackung in Plastikbeutel ist empfehlenswert.

Ausführung des Tests

Filterpapierblättchen werden mit der Untersuchungsflüssigkeit getränkt bzw. in Organ- (Niere, Leber) oder Muskeleinschnitte eingelegt. Danach werden sie auf den gebrauchsfertigen Testagar unter leichtem Andrücken aufgelegt. Pro Petrischale können bis zu 6 Blättchen aufgebracht werden.

Zur Durchführung des Tests werden 2 Methoden empfohlen:

1. 45-Minuten-Bebrütung, Schnelltest

Der gebrauchsfertige Testagar wird über 135 Minuten bei 65 °C vorbebrütet. Nach dem Auflegen der Filterpapierblättchen wird ohne Vordiffusion über 45 Minuten bei 65 °C nochmals bebrütet.

2. 3-Stunden-Bebrütung

Der nicht vorbebrütete, gebrauchsfertige Testagar wird nach Auflegen der Blättchen ohne Vordiffusion über 3 Stunden bei 65 °C bebrütet.

Auswertung

Beim Schnelltest kann nach ca. 15 bis 25 Minuten Bebrütung gegebenenfalls bereits eine Hemmhöfbildung erkannt werden. Nach Abschluß der 45-Minuten-Bebrütung sind die Hemmhöfe durch den Farbumschlag des Nährbodens schärfer abgegrenzt. Eine Hemmhöfbildung ist positiv zu bewerten.

Bei der Methode der 3-Stunden-Bebrütung werden Hemmhöfe erst mit einem Durchmesser über 10 mm als positiv bewertet.

Bei noch undeutlichem Farbumschlag nach 45 Minuten bzw. 3 Stunden kann die Bebrütung evtl. entsprechend verlängert werden.

Aufbewahrung von Geobacillus stearothermophilus-Sporensuspension

Für die Lagerung wird die Aufbewahrung im Kühlschrank bei +2 bis +8 °C empfohlen. Eine Aufbewahrung bei Zimmertemperatur (bis +25 °C) ist nur für 1 bis 2 Tage möglich, da ansonsten die Haltbarkeit beeinträchtigt wird.

Haltbarkeit

Bei vorschriftsmäßiger Aufbewahrung im Kühlschrank haltbar bis zum angegebenen Verfalldatum. Danach ist mit einem beginnenden Aktivitätsabfall der Sporen zu rechnen.

Literatur

Kundrat, W.: Methoden zur Bestimmung von Antibiotika-Rückständen in tierischen Produkten. – Zeitschrift f. anal. Chemie, **243**; 624 (1968).
Kundrat, W.: 45-Minuten-Schnellmethode zum mikrobiologischen Nachweis von Hemmstoffen in tierischen Produkten. – Die Fleischwirtschaft, **4**; 485–487 (1972).
Forschner, E.: Rationalisierungsmöglichkeiten beim Nachweis von Hemmstoffen in Milch im Agardiffusionsverfahren. – Archiv f. Lebensmittelhygiene, **5**; 101–104 (1972).