

Harnstoff-Pepton-Agar-Basis nach Christensen

Art.-Nr. CM 53

Zum Nachweis stark Harnstoff-abbauender *Proteus* spp. und schwächer Harnstoff-abbauender *Enterobacteriaceae*.

Der Nährboden entspricht der ISO 6579¹, der DIN EN 12824², der DIN 38414 (DEV)³ sowie den Empfehlungen der DGHM⁴ und des § 35 LMBG⁵.

| Typische Zusammensetzung | (g/l) |
|---------------------------|-------|
| Pepton | 1,0 |
| Glucose | 1,0 |
| Natriumchlorid | 5,0 |
| Dinatriumhydrogenphosphat | 1,2 |
| Kaliumdihydrogenphosphat | 0,8 |
| Phenolrot | 0,012 |
| Agar | 15,0 |
| pH 6,8 ± 0,2 | |

Zubereitung

2,4 g Harnstoff-Pepton-Agar-Basis nach Christensen in 95 ml Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 20 Minuten bei 115°C autoklavieren und auf 50°C abkühlen. Nach dem Abkühlen aseptisch 5 ml 40%ige Harnstoff-Lösung (OXOID, Art.-Nr. SR 20) zugeben. Gut mischen, je 10 ml in Röhrchen abfüllen und als Schrägagar erstarren lassen. NACH DEM ZUSATZ VON HARNSTOFF NICHT WIEDER ERHITZEN!

Beschreibung

Harnstoff-Pepton-Agar nach Christensen⁶ wird zum Nachweis der Urease-Aktivität Urease-positiver *Proteus* spp. empfohlen. Er kann auch zum Nachweis der Harnstoff-Spaltung bei einigen *Enterobacteriaceae* und damit zur Differenzierung Harnstoff-abbauender Keime verwendet werden, allerdings ist die Bebrütungsdauer dann meist länger.

Kulturverfahren

1. Schrägagar mit der zu untersuchenden Reinkultur im Oberflächenausstrich kräftig beimpfen und mindestens 24 Stunden bei 36°C bebrüten.
2. Wenn mit Urease-positiven *Proteus* spp. beimpft wurde, ist die Reaktion meist nach 3-5 Stunden Bebrütung bei 36°C abgeschlossen: Urease-Bildner spalten den Harnstoff und bilden Ammoniak; der vorher gelblich bis orangefarbene Nährboden verfärbt sich purpurrot.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Harnstoff-Lösung: 2-8°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Proteus vulgaris ATCC 13315

Negativkontrolle

Escherichia coli ATCC 25922

Zusätzliche Hinweise

Eine alkalische Reaktion in diesem Nährboden nach verlängerter Bebrütungsdauer muß nicht zwangsläufig durch Urease-Aktivität verursacht werden. Es empfiehlt sich eine Überprüfung mit dem gleichen Nährboden ohne Harnstoff-Zusatz.

Zum Nachweis Urease-positiver *Proteus* spp. muß die Reaktion nach 2-5 Stunden Bebrütung abgelesen werden.

Literatur

1. ISO 6579 (1993) "Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp."
2. DIN EN 12824: "Horizontales Verfahren zum Nachweis von Salmonellen."
3. DIN 38414: "Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Schlamm und Sedimente. Nachweis von Salmonellen in entseuchten Klärschlämmen (S 13)."
4. DGHM (Lieferung 2, 1983) "Verfahrensrichtlinien für die Mikrobiologische Diagnostik". Kap. 2.1, S. 22.
5. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 00.00-20: "Nachweis von Salmonellen."
6. Christensen, W.B. (1946) *J. Bacteriol.* 52, 461-466.