

## Nährgelatine

Art.-Nr. CM 635

Zur Koloniezahlbestimmung in Wasser und zum Nachweis Gelatine-abbauender Mikroorganismen.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Fleischextrakt "Lab-Lemco"	3,0
Pepton	5,0
Gelatine	120,0
pH 6,8 ± 0,2	

### Zubereitung

128 g Nährgelatine in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Gut mischen und Platten gießen. Platten zum Erstarren unterhalb 20°C abkühlen lassen oder in einen Kühlschrank stellen.

### Beschreibung

Nährgelatine ist bei 22°C und darunter ein fester Nährboden und wird zur Bestimmung der Gelatineverflüssigung sowie zur Koloniezahlbestimmung bei 20°C eingesetzt<sup>1, 2</sup>.

Während gelatinehaltige Nährböden für die meisten Zwecke durch solche mit Agar abgelöst wurden, findet Nährgelatine weiterhin bei der Differenzierung von Mikroorganismen aufgrund ihrer proteolytischen Wirkung Verwendung.

### Kulturverfahren

Die Gelatineverflüssigung kann auf Nährgelatine durch Bebrütung einer Stich- oder Plattenkultur bei 20–22°C geprüft werden. Alternativ kann bei höherer Temperatur (meist beim Temperaturoptimum der untersuchten Keime) bebrütet werden und das Röhrchen oder die Platte vor der Begutachtung dann in einen Kühlschrank oder kaltes Wasser gebracht werden. Die letztere Methode erlaubt nicht nur die Untersuchung von Keimen, die bei 20–22°C schlecht oder gar nicht wachsen, sondern vermeidet durch das Einbringen in die Kälte auch falsch-positive Ergebnisse durch die Freisetzung von Enzymen nach dem Absterben der Mikroorganismen<sup>3</sup>.

Wird bei einer höheren Temperatur bebrütet, ist es notwendig, unbeimpfte Kontrollen mitzuführen, um hydrolytische Effekte durch Hitze und andere Faktoren feststellen zu können. Die Verflüssigungsraten variieren beträchtlich: Einige Keime führen innerhalb weniger Tage zur Verflüssigung, während andere mehrere Wochen benötigen. In der Praxis wird eine maximale Bebrütungs-dauer von 14 Tagen vorgeschlagen<sup>4, 5</sup>. In einigen Fällen ist die Bebrütungszeit jedoch noch erheblich länger; so verflüssigen einige Stämme von *Enterobacter cloacae* Gelatine erst nach drei Monaten bei 20–22°C<sup>6</sup>. Dabei ist es besonders wichtig, die Platten oder Röhrchen gut zu verschließen, um ein Austrocknen des Nährbodens zu vermeiden.

Parallel zum Nachweis auf An- oder Abwesenheit ist die Form und Beschaffenheit des verflüssigten Teils der Stichkultur oft charakteristisch.

Besonders bei Plattenkulturen kann die Gelatineverflüssigung oft schneller durch die "Stone-Reaktion" nachge-

wiesen werden: Dazu wird zu einer einzelnen, auf Nährgelatine gewachsenen Kolonie ein Tropfen gesättigter, wäßriger Ammoniumsulfat-Lösung oder ein Tropfen frischer, 20%iger, wäßriger Sulfosalicylsäure-Lösung gegeben. Eine positive Reaktion (d. h. Gelatineverflüssigung) wird durch eine klare Zone um die Kolonie nach 10minütigem Kontakt mit einem der beiden Reagenzien angezeigt. Diese Methode ist etwas weniger sensitiv, es können allerdings verschiedene Stämme auf einer Platte getestet werden. Die "Stone-Reaktion" kann ebenfalls mit Staphylococcus-Agar Nr. 110 (OXOID, Art.-Nr. CM 145) zur Differenzierung von Staphylokokken durchgeführt werden.

Für das Standardverfahren zur Koloniezahlbestimmung auf gelatineverflüssigende Keime (APHA<sup>1, 2</sup>) wird das Untersuchungsmaterial mit sterilisiertem Leitungswasser verdünnt und 0,5 oder 1 ml der Verdünnung in jede Petrischale gegeben. Dabei für jede Verdünnungsstufe mindestens zwei Platten anlegen. Flüssige Nährgelatine auf etwa 42°C abkühlen und in jede Petrischale 10 ml geben. Den Inhalt durch Neigen und Rotieren mischen, nach dem Gießen möglichst schnell erstarren lassen und in einen Brutschrank bei 19–21°C stellen. 48 ± 3 Stunden bebrüten und wenigstens zwei Verdünnungsplatten, die zwischen 30 und 300 Kolonien aufweisen, auszählen.

### Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

### Qualitätskontrolle

(Gelatinase-positiv)

*Serratia liquefaciens* ATCC 27592

(Gelatinase-negativ)

*Escherichia coli* ATCC 25922

### Zusätzliche Hinweise

Warme Röhrchen mit Nährgelatine nicht schütteln, da Wachstum und Verflüssigung der Gelatine häufig nur in der oberen Schicht auftreten<sup>8</sup>.

In der Routinediagnostik ist es entscheidend, ob Gelatineverflüssigung beobachtet wird; Typ oder Form der Verflüssigung sind weniger bedeutend<sup>3</sup>.

### Literatur

1. APHA (1963) "Diagnostic procedure and reagents". APHA Inc., New York.
2. APHA (1946) "Standard methods for the examination of water and water sewage". 9th Edn., APHA Inc., Washington, D.C.
3. American Society of Microbiology (1981) "Manual of methods for general bacteriology". ASM, Washington, D.C.
4. Cowan, S.T. und Steel, K.L. (1966) "Manual for the identification of medical bacteria". Cambridge University Press, Cambridge, S. 19, 27–28, 116 und 156.
5. Wilson, G.S. und Miles, A.A. (1964) "Topley's and Wilson's principles of bacteriology and immunity". 5th Edn., Vol. 1, Edward Arnold, London, S. 493–494.
6. Windle Taylor, E. (1958) "The examination of waters and water supplies". 7th Edn., Churchill Ltd., London, S. 414 und 422.
7. Stone, R.V. (1935) Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 33, 185–187.
8. Frobisher, M. (1957) "Fundamentals of microbiology". 6th Edn., W.B. Saunders, Philadelphia, S. 39.