

Hemmstofftestagar (pH 7,2)

DM298

Verwendungszweck

Ein Standardmedium für den Nachweis von antimikrobiellen Hemmstoffen in Fleisch- und Organproben durch den Dreiplattentest.

Packungsinhalt

Siehe Packungsetikett

Zusammensetzung*

Substanz	Konzentration in 1 L Medium
Pepton	7,0 g/L
NaCl	5,0 g/L
tri-Natriumphosphat	0,8 g/L
Agar	13,0 g/L
pH: 7,2 ± 0,2	

Lagerung und Haltbarkeit

Alle Behälter mit Trockennährmedien nach Gebrauch dicht verschließen und an einem trockenen Ort zwischen 10 und 25°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum lagern.

Vorsichtsmaßnahmen

Nur zur *In-vitro*-Diagnostik. Die Schutzmaßnahmen für den Umgang mit potenziell infektiösem Material beachten und nur unter sterilen Bedingungen arbeiten. Nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Den Abfall des potenziell infektiösen Materials vor der Entsorgung autoklavieren. Bitte das Sicherheits-datenblatt beachten (auf Anfrage oder auf der MAST® Homepage erhältlich).

Zusätzlich benötigte Materialien

Mikrobiologische Instrumente wie Impfösen, MAST® Selektivsupplemente, Pinzetten, Tupfer, Autoklaven und Brutschränke sowie serologische und biochemische Reagenzien und Zusätze wie z.B. Blut.

Testdurchführung

- Die auf dem Packungsetikett angegebene Menge MAST® Hemmstofftestagar pH 7,2 (DM298D) in dem entsprechenden Volumen destilliertem oder deionisiertem Wasser suspendieren. Bei Gebrauch der Sachets den gesamten Inhalt eines Sachets in das auf dem Packungsetikett angegebene Volumen geben.
- 15 Minuten bei 121°C (15 p.s.i.) autoklavieren.
- Das autoklavierte Medium auf 50 bis 55°C abkühlen lassen und bei dieser Temperatur in einem Wasserbad aufbewahren.
- 1mL/L *Bacillus subtilis* BGA (DSM-Nr. 618)-Sporensuspension, bestehend aus 1 x 10⁷ CFU/mL, (Endkonzentration im Medium 10⁴ CFU/mL) hinzugeben.
- Herstellung der Trimethoprim-Stammlösung: 10mg Trimethoprim (TMP) werden in 10mL Ethanol unter Schütteln bei 50°C gelöst (Stammlösung). Diese Lösung ist bei kühler und dunkler Aufbewahrung mehrere Monate haltbar. Durch Zugabe von 190mL A. dest. wird die Lösung auf eine Konzentration von 50 µg Trimethoprim/mL eingestellt (Gebrauchs-lösung).

Die Haltbarkeit dieser Lösung beträgt bei Kühlung mind. 14 Tage. Von dieser Lösung 1 ml zu 1 L Hemmstofftestagar nach Autoklavieren und Abkühlen auf 50-55°C zugegeben. Es kann auch das MAST® Trimethoprim-ADATAB® (TAB/TM 0.05; Best.-Nr.: 252252) zu 1 L vorbereitetem Medium (nach Autoklavieren und Abkühlen auf 50 bis 55°C) zugegeben werden. Sollten kleinere Medienvolumina angesetzt werden, kann das Trimethoprim-ADATAB® zuvor in einem geringen Volumen (0,2ml bis 1,0ml) Ethanol gelöst, aliquotiert und bei -20°C gelagert werden.

- Gut mischen, Platten mit einer 2mm hohen Schichtdicke gießen (10 bis 15mL pro 9cm Petrischale) und stehen lassen.
- Die getrockneten Platten sollten sofort verwendet werden.
- Zylinderförmige Gewebestücke mit einem Durchmesser von 8mm und einer Höhe von 2mm unter möglichst sterilen Bedingungen ausstanzen. Für den Dreiplattentest werden 6 Proben benötigt.
- Mit einer sterilen Pinzette jeweils zwei Fleischproben gegenüber auf jede der drei Testplatten (DM276D, pH 6,0; DM298D, pH 7,2 und DM308D, pH 8,0) aufbringen.
- Das jeweilige MAST® Kontrolltestblättchen (SD0,5; Best.-Nr.: 111910) mit einer sterilen Pinzette auf jeweils eine der drei Platten aufbringen.
- MAST® Hemmstoff-Testagar(pH 7,2)-Platten bei 30°C für 18 bis 24 h inkubieren.

Interpretation der Ergebnisse

Nach Inkubation den Radius der Hemmzone bestimmen. Ein positives Ergebnis wird durch eine komplette Wachstumshemmung auf der Agaroberfläche mit einer Hemmzone ≥ 2mm um beide auf dem Agar aufgebraute Fleischproben angezeigt. Eine Hemmzone von weniger als 2mm, aber mind. 1mm ist als zweifelhaft anzusehen.

Qualitätskontrolle

Das Medium auf Anzeichen von Verfall überprüfen. Die Qualitätskontrolle muss mit mindestens einem Organismus durchgeführt werden, um das erwartete Ergebnis zu bestätigen. Wenn die Kontrollreaktion fehlerhaft ist, das Produkt nicht einsetzen. Zur Sensibilitätsprüfung des verwendeten Testkeim-Stammes wird ein Sulfadimidin-Testblättchen mit einer Beladung von 0,5 µg auf den vorbereiteten Nährboden gelegt. Die Hemmzonen eines sensiblen Teststammes liegen im angegebenen Bereich.

Antibiotikum	Beladung
	Hemmzone [Radius]
Sulfadimidin 0,5 µg (SD 0,5)	> 6 mm

Referenz

Bibliographie auf Anfrage erhältlich.