

Testmethoden für die Überprüfung der Leistungsfähigkeit (Performance) mikrobiologischer Medien

H. ASPERGER

Mikrobiologische Medien („Nährböden“) sind die Basis aller mikrobiologischen, kulturellen Methoden und ebenfalls notwendig in verschiedenen Schritten molekularbiologischer Techniken. Von der gleichbleibenden Qualität des Mediums hängt dabei nicht unwesentlich die Richtigkeit der Analysen ab. Diese Erkenntnis führte in der CEN-Arbeitsgruppe TC 275/WG 6 dazu, Richtlinien für die Herstellung von Medien zu schaffen. Der 1. Teil „General guidelines on **quality assurance for the preparation of culture media**“ ist abgeschlossen und als CEN/ISO Norm 11133-1 erschienen.

Um über das Funktionieren der Qualitätssicherung Bescheid zu wissen, wurde ein zweiter Teil „Practical guidelines on **performance testing of culture media**“ erarbeitet. Die Norm beschreibt zunächst die Kriterien einer Qualitätskontrolle. Neben der Freiheit von Kontaminationen sind es Wachstumsparameter, die sich in der Produktivität, Selektivität und Elektivität der Medien ausdrücken. Danach werden quantitative, semiquantitative und qualitative Methoden beschrieben, die unter Verwendung definierter Testorganismen die Überprüfung der mikrobiologischen Qualitätskriterien sowohl für feste als auch flüssige Medien ermöglichen sollen.

Die Überprüfung der **festen Medien** erfolgt mittels (a) einer quantitativen Plattierungsmethode, (b) einer semiquantitativen („ecometrischen“) Ausstrichmethode und (c) einer einfachen Ausstrichmethode. Die Ergebnisse ermöglichen im Fall (a) die Interpretation eines „Productivity Ratio“ (PR) und „Selectivity Factor“ (SF). Die semiquantitative Methode ergibt Wachstumsindices (WI), die sich aus der Anzahl bewachsener Striche auf der Agarplatte ableiten, die qualitative Methode zeigt ein grobes Bild

über das Wachstum erwünschter und die Wachstumsunterdrückung der unerwünschten Testkeime.

Die Überprüfung der **flüssigen Medien** gestaltet sich wesentlich aufwendiger. Im Gegensatz zu der bisher gebräuchlichen Untersuchung der jeweils höchsten Verdünnung mit erkennbarem Wachstum („Dilution to extinction“) werden für ein quantitatives Verfahren erwünschte und unerwünschte Testkeime in das Testmedium und parallel in ein Referenzmedium geimpft und nach einer entsprechenden Bebrütungsphase das Wachstum durch Koloniezählbestimmung erhoben. Hinsichtlich der Interpretation kann einerseits die Anwendung einer Verhältniszahl (PR, SF), aber auch absolute Keimzahlgrenzwerte herangezogen werden.

Beim semiquantitativen Verfahren wird lediglich ein flüssiges Testmedium einerseits mit einer „mixed“ culture aus erwünschten und unerwünschten Keimen und in einem anderen Röhrchen nur unerwünschte Keime eingeimpft. Für die Beurteilung der Produktivität müssen beim Ösenausstrich der mixed culture auf einem selektiven Agar mindestens 10 Kolonien der erwünschten Keime anwachsen, für die Selektivitätsprüfung sollte beim Ausstrich auf dem nicht selektiven Agar kein Wachstum unerwünschter Keime auftreten.

Für Flüssigmedien wird auch ein einfaches qualitatives Verfahren beschrieben. Hierbei werden mit einer Öse Testkulturen in ein Röhrchen des zu prüfenden flüssigen Testmediums geimpft. Nach der Bebrütung wird visuell ein erwünschtes oder unerwünschtes Wachstum durch eingetretene Trübung oder sonstige Reaktionen oder deren Ausbleiben beurteilt.

In der Mikrobiologie wird eine Vielzahl verschiedener Medien verwendet. Ein normiertes Kontrollverfahren zur Über-

prüfung der Eignung sollte für alle Medien eingesetzt werden können. Dazu ist es notwendig die jeweils geeigneten **Testorganismen** zur Verfügung zu haben. Aus Vergleichbarkeitsgründen werden dafür meist definierte Stämme aus renommierten Stammsammlungen verwendet.

Im Standard 11133-2 werden in einem Anhang die für jedes Medium geeigneten „wanted“ and „unwanted“ Teststämme zusammengestellt.

Für jedes Medium wird auch festgelegt, welche **Leistungskriterien** (PR, SF, WI) zu erfüllen sind. Für die quantitative Beurteilung eines Selektivmediums ist der Vergleich mit dem Wachstum auf bzw. in einem **Referenzmedium** notwendig. Für die Leistungsfähigkeit eines Mediums ist auch das Verhalten bei Vorliegen von **Mischkulturen** wichtig. Solche Untersuchungen erhöhen allerdings den Untersuchungsaufwand erheblich.

Entscheidend ist letztlich der **Untersuchungsaufwand**, der darüber entscheidet, ob und in welchem Umfang in der Praxis eines Medienanwenders solche „performance“-Testverfahren eingesetzt werden. Aus diesem Grund wurden in diesem Standard auch einfache qualitative Verfahren beschrieben, die aufgrund ihres geringen Aufwandes durchaus ihren Platz in der täglichen Routine des Medienanwenders finden sollten.

Die Erfahrung hat gezeigt, daß bei Fertigmedien („ready to use“) Hersteller-Zertifikate fallweise keine Gewähr für die einwandfreie Qualität geben. Daher muß sowohl für diese Medien und noch vielmehr für im Labor selbst hergestellte Medien ein Mindestmaß an Qualitätssicherungsmaßnahmen und Kontrollen verlangt werden. Dazu soll der CEN/ISO Standard 11133 Teil 1 und Teil 2 eine Anleitung geben.

Autor: ao. Univ. Prof. Dr. Hans ASPERGER, Inst. für Milchhygiene, Milchtechnologie und Lebensmittelwissenschaft, Veterinärmedizinische Universität, Wien, Veterinärplatz 1, A-1210 WIEN



