



Leitfaden zur Herstellung und Aufbewahrung von Medien und Agars

Im Laboralltag ist das Ansetzen von Agars und Medien ein einfacher und schneller Prozess. Dieser kurze Leitfaden soll einige Punkte erläutern, die nur wenig Arbeit machen und Ihnen die höchste Qualität Ihrer Medien und Agars garantieren.

REHYDRATION (LÖSEN)

Grundsätzlich empfehlen wir, die Trockenmedien nach dem Einbringen in Wasser nicht direkt zu autoklavieren, sondern zunächst vollständig zu lösen. Das Lösen beinhaltet die vollständige Mischung des Pulvers mit dem Wasser und in vielen Fällen ein kurzes Erhitzen, ev. bis zum Kochen. Tatsächlich bestimmt dieser Auflösengang vor dem Sterilisieren häufig die Klarheit und die Ausbeute des Endproduktes, was vor allem bei hochkonzentrierten Stocklösungen (z.B. 10 X LB-Medium) erst ein optimales Endprodukt garantiert. Dabei sollte man immer eine homogene Lösung bei minimaler Hitzebelastung herstellen und nur reines Wasser (destilliert oder deionisiert) verwenden. Im Folgenden wird der Vorgang allgemein dargestellt; halten Sie sich bitte an die Anweisungen für jedes spezifische Nährmedium, die Sie auf dem Etikett oder auf den Datenblatt finden. Die benötigte Menge pulverisierten Materials wird zu etwa der Hälfte des Wassers gegeben (z.B. 500 ml bei einem Ansatz von 1 l) und gut untergerührt. Achten Sie bitte darauf, dass keine Klümpchen entstehen. Nach dem vollständigen Mischen wird Wasser auf das Endvolumen (z.B. 1 l) zugegeben und der Ansatz wiederum gemischt. Achten Sie bitte darauf, restliches Pulver von der Gefäßwand abzuspülen. Lassen Sie die Mischung für fünf Minuten bei Raumtemperatur stehen; dies trägt dazu bei, eine einheitliche Suspension zu erhalten. Viele Rezepturen, die nicht Gelatine, Agar oder Cystin enthalten, kann man ohne Wärmezufuhr auflösen. Diese können nun direkt in den Autoklaven gestellt und sterilisiert werden (s.u.). Andere Medien benötigen zum vollständigen Lösen direkte Wärmezufuhr unter Rühren, damit kein Siedeverzug auftritt. Achten Sie bitte auf eine gleichmäßige Wärmezufuhr und darauf, den Ansatz so kurz wie möglich aufzukochen. Bei einem Ansatz von 1 l an 1 X konzentriertem Medium ist i.d.R. 1 Minute ausreichend, wir empfehlen allerdings, bei höher konzentrierten Lösungen die Zeit auf 2-3 Minuten zu verlängern. Das Medium kann nun nach kurzem Abkühlen im Autoklaven sterilisiert werden (s.u.).

STERILISATION

Halten Sie sich auch hier bitte an die Anweisungen für jedes spezifische Nährmedium, die Sie auf dem Etikett oder auf dem Datenblatt finden. Diese Anweisungen gelten im Allgemeinen für kleinere Ansätze, also z.B. 1 l an 1 X konzentrierter Lösung. Für größere Ansätze ist die Sterilisationszeit um bis zu 30 Minuten zu verlängern, ohne die Temperatur, die für jedes Medium spezifiziert ist, zu überschreiten. Auch bei höher konzentrierten Medien (z.B. 10 X Stocklösungen) kann es geraten sein, die Autoklavierzeit entsprechend zu verlängern. Bitte beachten Sie: Medien, die Kohlehydrate enthalten, sollten nicht bei einer Temperatur von über 116 °C bis 118 °C autoklaviert werden. Überhitzung ist in diesen Fällen grundsätzlich zu vermeiden. Verwenden Sie nur kurze Autoklavierzeiten von ca. 10 Minuten, da die Aufheiz- und Abkühlphase des Autoklaven addiert werden muss. Nach dem Autoklavieren sollte das Medium etwa auf Raumtemperatur abgekühlt sein, bevor es zur Lagerung kühl gestellt wird. Antibiotika sind nicht hitzestabil und sollten ebenfalls nur abgekühltem (ca. 50-55 °C) Medium zugegeben werden. Zum Gießen von Petrischalen lässt man das Agarmedium auf ca. 55 °C abkühlen, fügt eventuell Antibiotika oder andere Zusätze hinzu und gießt ca. 5 mm hoch in Petrischalen. Bitte beachten Sie für die Zugabe von Additiven die Angaben auf dem jeweiligen Datenblatt oder Etikett.

LAGERUNG VON FLÜSSIGEN MEDIEN ODER AUTOKLAVIERTEM AGAR

Autoklavierte Medien sind zwar sterilisiert, die Bestandteile unterliegen allerdings als Naturprodukte dem natürlichen Verfall. Eine entsprechende Kühlung kann diese Zersetzung zwar verlangsamen, aber nicht unterbinden. Wir empfehlen deshalb, angesetzte und autoklavierte Medien nur für wenige Wochen bei 4-8 °C aufzubewahren. Bei bestimmten Zusätzen wie defibriertem Blut kann diese Zeit weiter herabgesetzt sein. Antibiotikahaltige Medien sind zwar prinzipiell stabiler, allerdings verringert sich die Antibiotikakonzentration während dieser Zeit. Hier empfehlen wir, Platten und Medien nicht länger als 2 Wochen aufzubewahren.

LAGERUNG VON TROCKENEN MEDIEN

Lagern Sie das Pulver in der Originalflasche kühl und trocken, bei Raumtemperatur aber möglichst unter 25 °C und ohne direkte Sonneneinstrahlung. Bitte beachten sie: es gibt einige Medien, die auch als Pulver bei einer Temperatur von 2-8 °C gelagert werden müssen (siehe Etikett und jeweiliges Datenblatt). Wenn eine Flasche mit pulverisiertem Medium zum Gebrauch geöffnet wurde, sollte sie sofort wieder verschlossen werden, um Feuchtigkeitsaufnahme zu vermeiden. Nimmt das Medium Feuchtigkeit auf und es bilden sich Klumpen, wird es dabei kontaminiert und eine Sterilisation wird schwierig. In diesen Fall sollte die Flasche verworfen werden. Trockenpulver von mikrobiologischen Nährmedien und -agars ist bei sach- und fachgerechter Lagerung allgemein ca. 2 Jahre nach Auslieferung haltbar.

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5
76185 Karlsruhe
Postfach 100121
76231 Karlsruhe
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0
Telefax: +49 (0) 721/ 5606-149
E-Mail: info@carlroth.de
Internet: www.carlroth.de

s.s. 12.2009