

## Staphylococcus-Agar Nr. 110

(Chapman-Nährboden)

Art.-Nr. CM 145

Zur Isolierung und Differenzierung pathogener Staphylokokken anhand von Salztoleranz, Pigmentierung, Mannitverwertung und Gelatineverflüssigung.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Hefeextrakt	2,5
Caseinpepton	10,0
Lactose	2,0
Mannit	10,0
Natriumchlorid	75,0
Dikaliumhydrogenphosphat	5,0
Gelatine	30,0
Agar	15,0
pH 7,1 ± 0,2	

### Zubereitung

150 g Staphylococcus-Agar Nr. 110 in 1 l Aqua dest. suspendieren, bis zum vollständigen Lösen erhitzen und 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Das Präzipitat vor dem Gießen gut verteilen.

### Beschreibung

Staphylococcus-Agar Nr. 110 ist ein von Chapman<sup>1,2</sup> entwickelter selektiver Nährboden zur Isolierung und Differenzierung pathogener Staphylokokken anhand der Salztoleranz, Pigmentierung, Mannitverwertung und Gelatineverflüssigung. Koagulase-positive Staphylokokken können auf dem Mannit-Nährboden mit hohem Salzgehalt wachsen und bilden orangefarbene Kolonien mit Gelatineverflüssigung. Die Säurebildung kann an den gewachsenen Kolonien mit Bromthymolblau nachgewiesen werden. Stone<sup>3</sup> stellte indessen fest, daß die Gelatinase-Aktivität ein entscheidendes Erkennungsmerkmal "lebensmittelvergiftender" Stämme sei. Chapman et al.<sup>4</sup> hielten fest, daß typische "lebensmittelvergiftende" Staphylokokken auch folgende weitere Eigenschaften zeigen sollen: orangefarbene Pigmentierung, Hämolyse, Koagulase und Mannitverwertung. Chapman<sup>5</sup> zeigte, daß eine Bebrütung bei 30°C eine stärkere Pigmentierung hervorruft ohne mit der Stone-Reaktion oder mit der Säurebildung aus Mannit zu interferieren; letztere bleiben genauso intensiv wie bei der Bebrütung bei 36°C.

Smuckler und Appleman<sup>6</sup> verstärkten die Selektivität des Staphylococcus-Agar Nr. 110 durch den Zusatz von Natriumazid zur Bestimmung Koagulase-positiver Staphylokokken aus Fleischpasteten, die hohe Anzahlen an *Bacillus* spp. enthielten.

Carter<sup>7</sup> modifizierte den Nährboden durch den Zusatz von 5% (v/v) Eigelb-Emulsion (OXOID, Art.-Nr. SR 47), um die charakteristischen Eigelbreaktionen von Staphylokokken sichtbar zu machen.

### Kulturverfahren

1. Untersuchungsmaterial auf Staphylococcus-Agar Nr. 110 ausstreichen.
2. 43 Stunden bei 36°C bzw. 48 Stunden bei 30°C bebrüten. Pigmentierte Kolonien sind dunkel orange, andere weiß.

3. Zum Nachweis der Koagulase in Nährbouillon Nr. 2 (OXOID, Art.-Nr. CM 67) oder auf Blutagar-Basis (OXOID, Art.-Nr. CM 55) subkultivieren.

Der "Clumping-Faktor" kann dann z. B. mit dem Staphylase-Test (OXOID, Art.-Nr. DR 595), dem Staphylect-Plus (OXOID, Art.-Nr. DR 850) oder dem Dryspot Staphylect Plus (OXOID, Art.-Nr. DR 100) nachgewiesen werden.

### Nachweis der Säurebildung aus Mannit

Die Säurebildung aus Mannit ist nach Zugabe von 1 Tropfen einer 0,04%igen Bromthymolblau-Lösung sehr gut ablesbar. Der Tropfen sollte seitlich neben einzeln gewachsenen Kolonien aufgegeben werden; Gelbfärbung zeigt Säurebildung an.

### Nachweis der Gelatineverflüssigung ('Stone-Reaktion')

Die Gelatineverflüssigung kann mit 1 Tropfen einer gesättigten, wäßrigen Ammoniumsulfat-Lösung oder besser eine 20%igen wäßrigen Sulfosalicylsäure-Lösung abgelesen werden, der zu einer einzelnen Kolonie getropft wird ("Stone-Reaktion"). Eine positive "Stone-Reaktion" erscheint nach ca. 10 Minuten durch eine klare Zone um die gelatinasebildenden Kolonien.

Das Auftropfen der Reagenzien wird erleichtert, indem auf die Kolonie ein kleiner, ca. 5 mm langer Polyethylenzylinder aufgesetzt wird, der von einem Polyethylenröhrchen abgeschnitten werden kann. Die Zylinder können in 70%igem Ethanol aufbewahrt werden.

Weitere Tests zur Absicherung der Bestätigung sollten durchgeführt werden.

### Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

### Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Negativkontrolle

*Escherichia coli* ATCC 25922

### Zusätzliche Hinweise

*Enterococcus faecalis* kann auf diesem Nährboden in sehr kleinen Kolonien mit leichter Mannitverwertung wachsen.

Der hohe Salzgehalt im Staphylococcus-Agar Nr. 110 kann den Koagulase-Nachweis stören, daher sollte vor der Testung in Nährbouillon Nr. 2 (OXOID, Art.-Nr. CM 67) oder auf Blutagar-Basis (OXOID, Art.-Nr. CM 55) subkultiviert werden.

### Literatur

1. Chapman, G.H. (1946) J. Bacteriol. 51, 409-410.
2. Chapman, G.H. (1952) J. Bacteriol. 63, 147-150.
3. Stone, R.V. (1935) Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 33, 185-187.
4. Chapman, G.H., Lieb, C.W. und Cumco, L.G. (1937) Food Research 2, 349-367.
5. Chapman, G.H. (1947) J. Bacteriol. 53, 365-366.
6. Smuckler, A. und Appleman, M.D. (1964) Appl. Microbiol. 12, 335-339.
7. Carter, C.H. (1960) J. Bacteriol. 79, 753-756.