

TCBS-Cholera-Agar, modifiziert

(Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar)
(Cholera-Agar)

Art.-Nr. CM 333

Zur selektiven Isolierung pathogener Vibrionen. Der Nährboden entspricht den Empfehlungen der DGHM¹.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Hefeextrakt	5,0
Bakteriologisches Pepton	10,0
Natriumthiosulfat	10,0
Natriumcitrat	10,0
Ochsengalle	8,0
Saccharose	20,0
Natriumchlorid	10,0
Eisen(III)-citrat	1,0
Bromthymolblau	0,04
Thymolblau	0,04
Agar	14,0
pH 8,6 ± 0,2	

Zubereitung

88 g TCBS-Cholera-Agar, mod. in 1 l Aqua dest. suspendieren, bis zum vollständigen Lösen erhitzen, gut mischen und Platten gießen. NICHT AUTOKLAVIEREN! Platten vor Verwendung trocknen.

Beschreibung

Kobayashi, Enimoto, Sakazaki und Kuwahara² entwickelten den TCBS-Cholera-Agar, mod. aus dem selektiven Isolierungsnährboden von Nakanishi³. Der OXOID TCBS-Cholera-Agar, mod. entspricht der Rezeptur von Kobayashi et al. bis auf die Ochsengalle, die hier speziell aufbereitet wird und damit die von Nakanishi und Kobayashi vermerkten Mängel nicht aufweist. Aus der Komplexität der Rezeptur dieses Nährbodens ist schon ersichtlich, daß ein einheitliches Wachstum bei der Zielsetzung dieses Nährbodens schwer zu erreichen ist. In mehreren Untersuchungen wurde gezeigt, daß der TCBS-Agar verschiedener Hersteller große Unterschiede aufweist⁴⁻⁷. Bei diesem Nährboden ist die Qualitätskontrolle durch den Hersteller besonders wichtig, da hier eine zufriedenstellende Hemmung der normalen Darmflora bei gleichzeitiger Förderung bestimmter *Vibrio* spp. besonders kritisch ist. West et al.⁸ zeigten, daß der OXOID TCBS-Cholera-Agar, mod. ihren Kriterien eines für diesen Zweck zufriedenstellenden Produktes am nächsten kam. Die WHO legte Minimalrichtlinien für die Wiederbelebung von *Vibrio* spp. fest⁹. Auf dem OXOID TCBS-Cholera-Agar, mod. können *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* und die meisten anderen Vibrionen angezogen werden¹⁰. Das Wachstum der meisten in Faeces vorkommenden *Enterobacteriaceae* wird bei einer Bebrütung von 24 Stunden im Wachstum völlig gehemmt. *Proteus* spp. und *Enterococcus faecalis* können schwach wachsen; ihre Kolonien können aber leicht von denen der Vibrionen unterschieden werden. Im Gegensatz zum Laurylsulfat-Tellurit-Agar benötigt der

OXOID TCBS-Cholera-Agar, mod. keine weitere Supplementierung oder den aseptischen Zusatz von Blut. Darüberhinaus zeigt der TCBS-Cholera-Agar, mod. im Vergleich zum ersteren ein wesentlich besseres Wachstum der Vibrionen auf. Während alle Nicht-Vibrionen gehemmt werden, fördert er die rasche Anzucht der pathogenen Vibrionen nach einer Bebrütung über Nacht bei 36°C. Zur Isolierung anderer Vibrionen z. B. aus Umweltmaterial wird eine Bebrütung bei niedrigeren Temperaturen (20–30°C) empfohlen. Saccharose-positive Keime wachsen auf TCBS-Cholera-Agar, mod. gelb, Saccharose-negative als blaugrüne Kolonien.

Koloniemorphologie

Vibrio cholerae und El-Tor-Vibrionen

Gelbe, flache bis leicht gewölbte Kolonien, Ø 2–3 mm.

V. parahaemolyticus

Blaugrüne Kolonien, Ø 3–5 mm.

V. alginolyticus

Gelbe Kolonien, Ø 3–5 mm.

*V. metschnikovii*¹¹

Gelbe Kolonien, Ø 3–4 mm.

*V. fluvialis*¹²

Gelbe Kolonien, Ø 2–3 mm.

*V. vulnificus*¹³

Blaugrüne Kolonien, Ø 2–3 mm.

*V. mimicus*¹⁴

Blaugrüne Kolonien, Ø 2–3 mm.

Enterococcus spp.

Gelbe Kolonien, Ø 1 mm.

Proteus spp.

Gelbgrüne Kolonien, Ø 1 mm.

Pseudomonas spp.

Blaugrüne Kolonien, Ø 1 mm.

Einige Stämme von *Aeromonas hydrophila* können als gelbe Kolonien wachsen, während *Plesiomonas shilloides* in der Regel auf TCBS-Cholera-Agar, mod. nicht wachsen.

Kulturverfahren

1. Faeces oder eine Anreicherung in alkalischem Peptonwasser¹⁵ auf TCBS-Cholera-Agar, mod. ausstreichen.
2. 18–24 Stunden bei 36°C, Umweltmaterial bei niedrigeren Temperaturen bebrüten.
3. Die Kulturen sollten nach der Entnahme aus dem Brutschrank möglichst schnell abgelesen werden, weil die Gelbfärbung der *V. cholerae*-Kolonien bei Raumtemperatur leicht wieder nach gelbgrün umschlagen kann¹⁰.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Vibrio cholerae NCTC 11218

(nicht pathogener Stamm)

Negativkontrolle

Escherichia coli ATCC 25922

Zusätzliche Hinweise

Auf dem TCBS-Cholera-Agar, mod. können Vibrionen nur vorläufig identifiziert werden, zusätzliche biochemische und serologische Testungen sind notwendig. Koloniematerial von TCBS-Cholera-Agar, mod. ist für die serologische Untersuchung (Objektträger-Agglutination) weniger gut, für die Oxidase-Reaktion meist nicht geeignet. Die Kolonien sollten vor diesen Testungen auf einem Nähragar subkultiviert werden.

Literatur

1. DGHM (Lieferung 1, 1981) "Verfahrensrichtlinien für die Mikrobiologische Diagnostik". Kap. 2.8, 13.
2. Kobayashi, T., Enomoto, S., Sakazaki, R., und Kuwahara, S. (1963) *Jap. J. Bacteriol.* 18, 10-11, 387-311.
3. Nakanishi, Y. (1963) *Modern Media* 9, 246.
4. McCormack, W.M. et al. (1974) *J. Inf. Dis.* 129, 497-500.
5. Morris, G.K. et al. (1979) *J. Clin. Microbiol.* 9, 79-83.
6. Nicholls, K.M., Lee, J.V. und Donovan, T.J. *J. Appl. Bact.* 41, 265-269.
7. Taylor, J.A. und Barrow, G.I. (1981) *J. Clin. Path.* 34, 208-212.
8. West, P.A. et al. (1982) *J. Clin. Microbiol.* 16, 1110-1116.
9. WHO Scientific Working Group (1980) *Bull. WHO* 58, 353-374.
10. Furniss, A.L., Lee, J.V. und Donovan, T.J. (1978) "The Vibrios". *PHLS Monograph* Nr. 11.
11. Lee, J.V., Donovan, T.J. und Furniss, A.L. (1978) *Int. J. Sys. Bact.* 28, 99-111.
12. Lee, J.V. et al. (1981) *J. Appl. Bact.* 50, 73-94.
13. Farmer, J.J. (1979) *Lancet* II, 903.
14. Davis, B.R. et al. (1981) *J. Clin. Microbiol.* 14, 631-639.
15. Burkhardt, F. (Hrsg.) (1992) "Mikrobiologische Diagnostik". G. Thieme Verlag, Stuttgart.