

Membran-Clostridium-Perfringens-Selektiv-Supplement

Art.-Nr. SR 188

Zusammensetzung je Röhrchen

(1 Röhrchen je 500 ml Nährboden)

Polymyxin B (105000 IE) 12,5 mg
D-Cycloserin 200 mg

Zubereitung

35,55 g mCP-Agar-Basis in 500 ml Aqua dest. suspendieren, gut mischen und 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren. Nährboden auf 50°C abkühlen lassen. Ein Röhrchen mCP-Selektiv-Supplement aseptisch in 2 ml sterilem Aqua dest. lösen und den gelösten Inhalt eines Röhrchens zu 500 ml abgekühlter, steriler Nährbodenbasis geben. Aseptisch die folgenden, in Aqua dest. gelösten und anschließend sterilfiltrierten Lösungen zusetzen:

Substanz	Empfohlene Bezugsquelle	Konzentration	Volumen
Phenolphthaleindiphosphat	SIGMA/ALDRICH Art.-Nr.: P 9875	0,5 %	10 ml
FeCl ₃ x 6 H ₂ O		4,5 %	1 ml
Indoxyl-β-D-Glukosid	SIGMA/ALDRICH Art.-Nr.: I 3750	0,75 %*	4 ml

* entspricht 30 mg in 4 ml

Hinweis: Die Lösungen müssen frisch zubereitet sein.

Gut mischen und in sterile Petrischalen gießen.

Beschreibung

Der mCP-Selektivnährboden wurde erstmals von Bisson und Cabelli (1979) als ein Nährboden zur schnellen quantitativen Erfassung von *C. perfringens* von verschiedenen Wasserproben (Meerwasser, Trink- und Abwasser) beschrieben. Der Nährboden zeigte höhere Wiederfindungsraten von *C. perfringens* von Wasser- und Abwasserproben im Vergleich zur Röhrchenmethode nach Bonde³.

Im Rahmen der Richtlinie 98/83/EG des Rates über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch wurde der mCP-Selektivnährboden als Nährboden zum Nachweis von *C. perfringens* aus Trinkwasser empfohlen¹.

Im mCP-Selektivnährboden wird das Fehlen der β-D-Glukosidase (beteiligt an der Verwertung von Cellobiose), die Fermentation von Saccharose und die Bildung einer sauren Phosphatase zur Differenzierung von präsumtiven *C. perfringens* von anderen Clostridien genutzt.

Das Fehlen der β-D-Glukosidase-Aktivität hat zur Folge, daß *C. perfringens* nicht das im Nährboden enthaltene Chromogen Indoxyl-β-D-Glukosid spalten kann. Die Verwertung der im Nährboden vorhandenen Saccharose führt

Membran-Clostridium-Perfringens-Selektivnährboden

Ein selektiver, chromogener Nährboden für die Identifizierung von präsumtiven *Clostridium perfringens* aus Wasserproben. Der Nährboden entspricht der Richtlinie 98/83/EU¹ und der Verordnung zur Novellierung der Trinkwasserverordnung².

Membran-Clostridium-Perfringens-Agar-Basis

Art.-Nr. CM 992

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Tryptose	30,0
Hefeextrakt	20,0
Saccharose	5,0
L-Cysteinhydrochlorid	1,0
Magnesiumsulfat	0,1
Bromkresolpurpur	0,04
Agar	15,0
pH	7,6 ± 0,2

Nährböden

zur Absenkung des pH-Wertes, wodurch der pH-Indikator Bromkresolpurpur von purpur nach gelb umschlägt. Im Ergebnis finden sich charakteristische opak-gelbe *C. perfringens*-Kolonien.

Die meisten anderen *Clostridium* spp. wachsen entweder aufgrund fehlender Saccharoseverwertung als purpurne Kolonien, oder als blau / grüne Kolonien, wenn die Bakterien sowohl Indoxyl- β -D-Glukosid spalten als auch Saccharose verwerten können.

Präsumtive positive *C. perfringens*-Kolonien können bzgl. vorhandener Aktivität der sauren Phosphatase durch Bedampfung mit Ammoniumhydroxid über eine Dauer von 20 bis 30 Sekunden getestet werden. *C. perfringens*-Kolonien verfärben sich rosa oder rot durch die Spaltung von Phenolphthalein-Diphosphat durch die saure Phosphatase. Bakterien, die die saure Phosphatase nicht exprimieren, verfärben sich nicht. Da eine geringe Zahl von Clostridien, die nicht *C. perfringens* sind, ebenfalls als gelbe Kolonien wachsen, ist es notwendig, diesen Test durchzuführen. Diese Nicht-*C. perfringens* behalten nach der Bedampfung mit Ammoniumhydroxid ihre gelbe Koloniefarbe, weil sie die saure Phosphatase nicht bilden.

D-Cycloserin, Polymyxin B sowie eine Inkubation bei 44°C inhibieren das Wachstum der Begleitflora, wie gramnegative Bakterien und Staphylokokken.

Kulturverfahren

Wasserprobe mit einem 0,45 μ m Celluloseacetat- oder Cellulosenitrat-Filter filtrieren, dann den Filter auf den mCP-Selektivnährboden legen. Die Platten anaerob 21 \pm 3 Stunden bei 44 \pm 1 °C inkubieren. Verdächtige opak-gelbe Kolonien auf einem Farbumschlag nach rosa/rot nach Bedampfung mit NH₄OH für 20 bis 30 Sekunden überprüfen.

Koloniemorphologie

Organismus	Typische Koloniefarbe
<i>C. perfringens</i>	<u>Opak gelb</u> Saccharose positiv / Glukosidase negativ, rosa / rot nach Bedampfung mit NH ₄ OH
<i>Clostridium</i> spp.	<u>Blau / grün</u> Saccharose positiv / Glukosidase positiv (z.B. <i>C. baratii</i> , <i>C. paraputrificum</i> , <i>C. tertium</i>)
	<u>Purpur</u> Saccharose negativ / Glukosidase positiv oder negativ (z.B. <i>C. bifermentans</i> , <i>C. difficile</i> , <i>C. sporogenes</i>)
	<u>Opak gelb</u> Saccharose positiv / Glukosidase negativ, bleiben gelb nach Bedampfung mit NH ₄ OH

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10–25 °C.

Supplement: 2–8 °C

Haltbarkeit: siehe Etikett

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Clostridium perfringens ATCC 13124

Negativkontrolle:

Escherichia coli ATCC 25922

Clostridium sporogenes ATCC 19404

Literatur

1. E.U. (1998) 98/83/EU des Rates über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch. Off. J. Eur. Commun. L330:32-54.
2. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung –TrinkwV 2001) vom 21.Mai 2001. BGBl I Nr. 24, S. 959-980
3. Bisson, J.W. & Cabelli, V.J. (1979) Appl. Environ. Microbiol. 37:55-88.