

### OPSP-Selektivnährboden

Zur Isolierung und Koloniezahlbestimmung von *Clostridium perfringens* aus Lebensmitteln und anderem Material.

### Clostridium-Perfringens-Agar-Basis

Art.-Nr. CM 543

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Caseinpepton	15,0
Hefeextrakt	5,0
Sojamehlpepton	5,0
Leberextrakt	7,0
Eisen(III)-ammoniumcitrat	1,0
Natriumdisulfit	1,0
TRIS	
[Tris(hydroxymethyl)-aminomethan]	1,5
Agar	10,0
pH 7,3 ± 0,2	

### Perfringens-Selektiv-Supplement 'A'

Art.-Nr. SR 76

**Zusammensetzung je Röhrchen**  
(1 Röhrchen je 500 ml Nährboden)  
Sulfadiazin 50 mg

## Perfringens-Selektiv-Supplement 'B'

Art.-Nr. SR 77

### Zusammensetzung je Röhrchen

(1 Röhrchen je 500 ml Nährboden)

Oleandomycin	0,25 mg
Polymyxin B	5000 IE

### Zubereitung

22,8 g Clostridium-Perfringens-Agar-Basis in 500 ml Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Auf 50°C abkühlen. Den Inhalt jeweils eines Röhrchens Perfringens-Selektiv-Supplement 'A' sowie Perfringens-Selektiv-Supplement 'B' aseptisch in 2 ml sterilem Aqua dest. lösen und beides zu 500 ml steriler, abgekühlter Nährboden-Basis geben. Gut mischen und Platten gießen.

### Beschreibung

Die Clostridium-Perfringens-Agar-Basis wurde von Handford beschrieben<sup>1</sup>. Um eine hohe Selektivität und Spezifität für *Clostridium perfringens* zu erzielen, werden der Nährboden-Basis Sulfadiazin (100 µg/ml), Oleandomycin (0,5 µg/ml) und Polymyxin B (10 IE/ml) zugesetzt, die lyophilisiert im Perfringens-Selektiv-Supplement 'A' bzw. 'B' enthalten sind. Natriumdisulfit und Eisenammoniumcitrat zeigen als Indikator-Komplex die Sulfit-Reduktion durch *C. perfringens* an. *C. perfringens* bildet beim Gußplattenverfahren auf diesem Nährboden schwarze Kolonien. Testungen zur Bestätigung von *C. perfringens* werden in einer Studie durch die International Commission on Microbiological Specifications of Foods (ICMSF) beschrieben<sup>2</sup>. Auf dem OPSP-Selektivnährboden wird das Wachstum anderer Sulfit-reduzierender Bakterien wie Salmonellen, *Proteus* spp. und *Citrobacter freundii*, aber auch von Staphylokokken und *Bacillus* spp. gehemmt. Der OPSP-Selektivnährboden bietet den Vorteil, daß *C. bifermentans* und *C. butyricum* im Wachstum unterdrückt werden. Diese Sulfit-reduzierenden Organismen wachsen auf dem Shahidi-Ferguson-Perfringens-Selektivnährboden (SFP)<sup>3</sup> und dem Tryptose-Sulfit-Neomycin-Agar (TSN)<sup>4</sup> sehr schnell und bilden schwarze Kolonien mit Tendenz zum Schwärmen, die die gesamte Oberfläche des Nährbodens dunkel verfärben können. Einige Enterokokken-Stämme können auf und in dem OPSP-Selektivnährboden als kleine, weiße Kolonien wachsen, sind aber leicht von den schwarzen *C. perfringens*-Kolonien zu unterscheiden. Nährböden zur Koloniezahlbestimmung von *C. perfringens*, die Eigelb zum Nachweis der Lecithinase-Aktivität enthalten, ergeben weniger zufriedenstellende Resultate. Dies liegt zum Teil daran, daß *C. perfringens* häufig dazu neigt, klare Höfe (statt der erwarteten opaken Höfe) zu bilden; das Ergebnis erscheint dann falsch-negativ. Auch sind die Kolonien z.T. nicht zählbar, weil *C. perfringens* in stark ausgebreiteten Kolonien bis zu völliger Schwärzung des Nährbodens wachsen kann<sup>5</sup>.

### Kulturverfahren

1. OPSP-Selektivnährboden nach Vorschrift zubereiten.
2. Für Gußplatten ca. 25 ml Nährboden und 1 ml geeigneter Verdünnungsstufen des homogenisierten Untersuchungsmaterials mischen und erstarren lassen.
3. Platten 18-24 Stunden bei 36°C anaerob bebrüten. Hierzu wird die Verwendung des OXOID Anaerobierpotfes (Art.-Nr. HP 11 bzw. AG 25) in Verbindung mit dem Anaerogen (OXOID Art.-Nr. AN 25 bzw. AN 35) zur Erzeugung einer anaeroben Atmosphäre empfohlen.

### Koloniemorphologie

#### *Clostridium perfringens*

Große, schwarze Kolonien (Ø 2-4 mm) in der Nährbodenschicht.

#### *Enterococcus* spp.

Kleine, farblose Kolonien, die leicht von *C. perfringens* zu unterscheiden sind.

### Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Supplemente: 2-8°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

### Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

*Clostridium perfringens* ATCC 13124

Negativkontrolle

*Clostridium bifermentans* ATCC 638

### Zusätzliche Hinweise

Die Bildung schwarzer Kolonien auf diesem Nährboden ermöglicht eine vorläufige Identifizierung von *C. perfringens*. Weitere Testungen müssen durchgeführt werden.

### Literatur

1. Handford, P.M. (1974) J. Appl. Bacteriol. 37, 559-570.
2. Hauschild, A.H.W. et al. (1977) ICMSF Methods Studies VIII, Can. J. Microbiol. 23, 884-892.
3. Shahidi, S.A. und Ferguson, A.R. (1971) Appl. Microbiol. 21, 500-506.
4. Marshall, R.S., Steenbergen, J.F. und McClung, L.S. (1965) Appl. Microbiol. 13, 559-562.
5. Hauschild, A.H.W. und Hilsheimer, R. (1974) Appl. Microbiol. 27, 78-82.