



CLOSTRIDIEN-DIFFERENTIAL-BOUILLON

Zur Anreicherung und Zählung von Clostridien aus Lebensmitteln und anderen Proben

CL78

Zusammensetzung in g/l (angenähert):

Trypton.....	10,0
Rindfleischextrakt	10,0
Hefeextrakt	1,5
Lösliche Stärke	1,0
Glucose.....	1,0
L-Cystin.....	0,5
Natriumacetat	5,0
Natriumsulfit	0,4
Ammoniumeisen(III)-Citrat	0,7
pH-Wert.....	7,1 ± 0,2

HERSTELLUNG

30,1 g des Mediums werden in einem Liter destillierten Wasser suspendiert. Man mische gut und erhitze unter häufigem Rühren/Schütteln bis das Medium vollständig gelöst ist. Man koche das Medium eine Minute. Man gieße es in geeignete Behälter und sterilisiere für 15 Minuten bei 121 °C. Gekühlt lagern für bis zu 2 Wochen.

EINSATZGEBIET

Clostridien-Differenzial-Bouillon stellt eine Modifikation des Clostridien-Anreicherungsmediums dar (Best.-Nr. AE66.1), das durch Addition von Reagenzien zur Schwarzfärbung des Mediums verbessert wurde. Clostridien reduzieren Sulfid zu Sulfid, das mit dem Ammoniumeisen(III)-Citrate Eisensulfid bildet und hierdurch das Medium schwärzt (siehe: Gibbs, 1973, *J. Appl. Bact.* 36:23-3).

Da das Medium für Clostridien nicht selektiv ist, können auch andere anaerobe Bakterien wie Lactobacillen und Streptokokken wachsen. Da weiterhin auch andere Bakterienarten Sulfide produzieren können, können durch Pasteurisierung für 15 Minuten bei 75 °C vegetative Begleitkeime aus der Kultur entfernt werden. Allerdings können auch Clostridien hierdurch verloren werden, so dass dieser Prozess nur als Vergleichsansatz zu empfehlen ist. Das Wachstum der meisten nicht-sporenbildenden Mikroorganismen kann durch Zugabe von 70 IU/ ml Polymyxin zum Medium verhindert werden (Best.-Nr. 0235) (Gibbs und Freame, 1965, *J. Appl. Bact.* 28:95-111).

Die Kultur wird bei 30 °C anaerob inkubiert und nach 4-7 Tagen begutachtet. Da die Sporenkeimung bei Clostridien einige Zeit benötigen kann, sollten die Kulturen für bis zu 4 Wochen beobachten werden, um falsch-negative Ergebnisse sicher auszuschließen.

MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Medium bei einer Temperatur von 30 °C für 4-7 Tage.

Mikroorganismen	Wachstum	Schwarzfärbung des Mediums
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gut	-
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 10543	Gut	+
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC13124	Gut	+
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	Gut	+



DIFFERENTIAL REINFORCED CLOSTRIDIAL MEDIUM

For enrichment and enumeration of clostridia derived from food and other samples
CL78

Approximate formula in g/l:

Tryptone.....	10.0
Beef extract.....	10.0
Yeast extract.....	1.5
Soluble Starch	1.0
Glucose.....	1.0
L-Cystine.....	0.5
Sodium acetate.....	5.0
Sodium sulfite	0.4
Ammonium iron(III)-citrate.....	0.7
Final pH	7.1 ± 0.2

PREPARATION

Suspend 30.1 g of the medium in one liter of distilled or deionized water. Mix well and heat with frequent agitation until the medium is completely dissolved. Boil for one minute and dispense into appropriate containers and sterilize in the autoclave at 121°C for 15 minutes. Store cooled for up to 2 weeks.

USES

Differential Reinforced Clostridial Medium is a modification of the Reinforced Clostridial Medium (Art. No. AE66.1) which has been improved by addition of reagents for blackening of the medium. *Clostridia* are known to reduce sulfite to sulfide, which (with ammonium iron(III)-citrate) forms iron sulfide and, therefore, causes blackening of the culture medium.

(See: Gibbs, 1973, *J. Appl. Bact.* 36:23-3)

This medium is not selective for *Clostridia*, hence other anaerobe bacteria like *Lactobacilli* and *Streptococci* may grow. Since furthermore also other bacteria are able to also produce sulfide, removal of vegetative germs from the culture may be appropriate, e.g. by pasteurization for 15 mins. at 75 °C. However, this process may also result in the loss of *Clostridia* and can only be recommended for comparative studies. In order to inhibit the growth of most non-spore-forming microorganisms, add 70 IU/ ml polymyxin to the broth (Art. No. 0235) (Gibbs and Freame, 1965, *J. Appl. Bact.* 28:95-111).

Incubate at 30 °C and observe after 4-7 days. In order to exclude false-negative results, we recommend to follow up cultures for up to 4 weeks, since occasionally some time is required for spore germination of *Clostridia*.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the given medium from type cultures after incubation at a temperature of 30 °C and observed after 4-7 days.

Microorganisms	Growth	Black medium colour
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Good	-
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 10543	Good	+
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC13124	Good	+
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	Good	+

DIFFERENTIAL REINFORCED CLOSTRIDIAL MEDIUM

500 g

CL78.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

JWU 01/2024

