



PRODUKT SPEZIFIKATION



Artikel-Bezeichnung	Enterohämolsin Agar mit Schafblut
Artikel-Nummer	PB5105A

Produktaufmachung	Fertigplatte
Lagerung	6 – 12°C, lichtgeschützt
Füllgewicht	17 g ± 5 %
Abpackung	10 Platten verpackt in Folie
pH	7,1 ± 0,2
Farbe	Verkehrsrot, opak
Haltbarkeit	10 Wochen
Verwendungszweck	Ein Medium zum Nachweis und zur Isolierung von enterohaemolysin-bildenden enterohämorrhagischen <i>Escherichia coli</i> (EHEC). Nur für den Laborgebrauch bestimmt und von erfahrenem Personal einzusetzen.
Anwendung	Abhängig von unterschiedlichen Untersuchungsmethoden. Für Informationen siehe Produkt Information.

Typische Zusammensetzung	g/l
Columbia Blut Agar Basis	39,0
Calciumchlorid	1,47
Gewaschene Schaferythrocyten	40,0 ml

Qualitätskontrolle

1. Prüfung der allgemeinen Produktmerkmale
Etikettierung und Schalendruck
2. Sterilitätskontrolle
≥ 72 h bei 25 ± 1°C, aerob
≥ 72 h bei 36 ± 1°C, aerob
3. Biologische Prüfung
Inokulum für Spezifität: < 10 000 KBE

Inkubationsbedingungen: 18 – 24 h bei 36 ± 1°C, aerob

Kontrollstamm	Wachstum
<i>Escherichia coli</i> NCTC12900	Gutes Wachstum, grau glänzende Kolonien. Enterohämolsin positiv.
<i>Escherichia coli</i> DSM 10830	Gutes Wachstum, grau glänzende Kolonien, α-Hämolsin negativ.
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Gutes Wachstum, cremige Kolonien, α-Hämolsin positiv.

ATCC® is a registered trademark of American Type Culture Collection.

Artikel-Bezeichnung	Enterohämolysin Agar mit Schafblut
Artikel-Nummer	PB5105A

Beschreibung

Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC) bezeichnen eine Gruppe von toxinbildenden, darmpathogenen *E. coli*, die beim Menschen schwere, lebensbedrohliche Erkrankungen verursachen können. Diese Erkrankungen können als blutige Durchfälle (hämorrhagische Colitis) mit der möglichen Folge eines Nierenversagens (hämolytisch-urämisches Syndrom) auftreten. Das Hauptkennzeichen der EHEC ist die Bildung von sogenannten Shiga-ähnlichen Toxinen (SLT's), die auch Verotoxine genannt werden. Neben den bekanntesten EHEC der Serogruppe O157 zählen auch toxinbildende *E. coli* der Serogruppen O26, O111 und andere zu den EHEC.

Im klinischen Untersuchungsmaterial kommen EHEC häufig nur in geringen Keimzahlen innerhalb der normalen Darmflora vor. Ca. 90% der EHEC einschließlich aller EHEC O157 zeigen als phänotypisches Merkmal die Bildung von Enterohämolysin^{1,2}. Dieses Merkmal ist bei apathogenen *E. coli* dagegen sehr selten^{2,3}. Enterohämolysin-Bildung ist daher als Mittel zur Identifizierung von EHEC auf Enterohämolysin-Agar – selbst bei geringsten Keimzahlen und hoher Begleitflora – sehr gut geeignet⁴.

Auch EHEC in Lebensmittelproben (z.B. Rohmilch und Rinderhackfleisch) zeigen Enterohämolysin-Bildung und können daher auf Enterohämolysin-Agar identifiziert werden⁵.

Kulturverfahren**Isolierung aus klinischem Untersuchungsmaterial****1. Beimpfung**

Enterohämolysin-Agar direkt mit dem Untersuchungsmaterial z. B. Stuhl beimpfen. Zum besseren Erkennen der frühen Hämolyse sollte der Enterohämolysin-Agar mit der beimpften Öse eingestochen werden. Zur Anreicherung von Enterohämolysin-bildenden *E. coli* können auch „Über-Nacht-Kulturen“ in Caseinpepton-Sojamehlpepton-Lösung, modifiziert mit Novobiocin (mTSB+n) (Art.-Nr. CM0989 + SR0181) ausplattiert werden.

2. Bebrütung

Platten bei 36°C bebrüten

Auswertung

Die durch *E. coli* α -Hämolysin verursachte Hämolyse ist nach 3-4 Stunden Bebrütung bei 36°C als Aufhellung um den Stich herum und an den Stellen, an denen konfluierendes Bakterienwachstum erfolgt, sichtbar. Die durch Enterohämolysin verursachte Hämolyse ist nach ca. 20 Stunden Bebrütung bei 36°C sichtbar. In der Regel zeigen Enterohämolysin-bildende ($E\text{-Hly}^+$) *E. coli* kleinere und trübere Hämolyse-Höfe als α -Hämolysin-Produzenten. Zur deutlichen Sichtbarmachung der Enterohämolyse unter den Kolonien (bei vereinzelt auftretenden sehr kleinen Hämolysehöfen) können die Bakterien vom Nährboden mit der Öse abgenommen werden.

3. Bestätigung

Die isolierten Keime müssen durch den Nachweis ihrer Toxinbildung als EHEC bestätigt werden.

Artikel-Bezeichnung	Enterohämolysin Agar mit Schafblut
Artikel-Nummer	PB5105A

Isolierung aus Lebensmitteln

1. Beimpfung

Enterohämolysin-Agar direkt oder nach Anreicherung bei 36°C z.B. in Caseinpepton-Sojamehlpepton-Lösung, modifiziert mit VCC-Selektiv-Supplement (EEB) (Art.-Nr. CM0989 + SR0190) beimpfen. Zum besseren Erkennen der frühen Hämolyse sollte der Enterohämolysin-Agar mit der beimpften Öse eingestochen werden.

2. Bebrütung

Platten bei 36°C bebrüten. Viele EHEC-Stämme sind temperaturempfindlich, daher sollte die bei der Lebensmitteluntersuchung oft angewandte Selektivkultivierung für *E. coli* bei 44°C oder gar bei 45°C bei der Isolierung von EHEC-Stämmen **nicht** angewendet werden.

3. Auswertung

siehe oben

Charakteristische Koloniemorphologie

α-Hämolysin-bildende *Escherichia coli*

Durch α-Hämolysin verursachte Hämolyse ist nach 3-4 Stunden Bebrütung bei 36°C als Aufhellung in den Platten um den Einstich herum und an den Stellen, an denen konfluierendes Wachstum erfolgt, sichtbar.

Enterohämolysin-bildende *Escherichia coli*

Durch Enterohämolysin verursachte Hämolyse ist nach „Über-Nacht-Bebrütung“ (ca. 20 Stunden bei 36°C) an der beimpften Stelle sichtbar. In der Regel zeigen Enterohämolysin-bildende (E-Hly⁺) *E. coli* kleinere und trübere Hämolyse-Höfe als α-Hämolysin-Produzenten.

Literatur

1. Beutin, L. et al. (1989) J. Clin. Microbiol. 27, 2559-2564.
2. Beutin, L. et al. (1994) Med. Microbiol. Immunol. 183, 13-21.
3. Beutin, L. et al. (1988) Zentralbl. Bakteriol. Hyg. A 267, 576-588.
4. Beutin, L. et al. (1994) Klein. Lab. 40, 193-201.
5. Geier, D. (1992) Dissertationsschrift am Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin.