

Dreizucker-Eisen-Agar

Art.-Nr. CM 277

Zur Differenzierung von *Enterobacteriaceae* aufgrund der Fermentation von drei Zuckern und der H₂S-Bildung. Der Nährboden entspricht der ISO¹, der Europäischen Pharmacopoeia², der DIN EN 12824³ sowie den Empfehlungen der DGHM⁴ und des § 35 LMBG⁵.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Fleischextrakt 'Lab-Lemco'	3,0
Hefeextrakt	3,0
Pepton	20,0
Natriumchlorid	5,0
Lactose	10,0
Saccharose	10,0
Glucose	1,0
Eisen(III)-ammoniumcitrat	0,3
Natriumthiosulfat	0,3
Phenolrot	0,024
Agar	12,0
pH 7,4 ± 0,2	

Zubereitung

65 g Dreizucker-Eisen-Agar in 1 l Aqua dest. suspendieren, bis zum vollständigen Lösen erhitzen und in Röhren füllen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren. Als Schrägagar mit ca. 2,5 cm Hochschicht erstarren lassen.

Beschreibung

Dreizucker-Eisen-Agar ist ein Nährboden zur Differenzierung von *Enterobacteriaceae* aufgrund deren Fähigkeit, Lactose, Saccharose oder Glucose zu verwerten und H₂S zu bilden. Dieser Nährboden vereinigt die meisten Merkmale des Kligler-Eisen-Agars mit der Möglichkeit des Nachweises Saccharose-verwertender Keime, die Lactose während des Bebrütungszeitraumes oft nur sehr langsam oder überhaupt nicht, Saccharose dagegen schnell verwerten können.

Einige *Proteus* spp. und andere Spezies können ähnliche Reaktionen wie Salmonellen und Shigellen zeigen. Es ist daher notwendig, sie anhand der Harnstoff-Spaltung zu unterscheiden. In diesem Fall sollte Dreizucker-Eisen-Agar zusammen mit Harnstoff-Pepton-Lösung oder Harnstoff-Pepton-Agar (OXOID, Art.-Nrn. CM 71 bzw. 53) eingesetzt werden.

Reaktionen verschiedener Keime auf Dreizucker-Eisen-Agar

Keim	Hochschicht	Schrägfläche	Gasbildung	H ₂ S-Bildung
<i>Enterobacter aerogenes</i>	S	S	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	S	S	+	-
<i>Escherichia coli</i>	S	S	+	-
<i>Proteus vulgaris</i>	S	S	+	+
<i>Morganella morganii</i>	S	AR oder KR	+/-	-
<i>Shigella dysenteriae</i>	S	AR oder KR	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	S	AR oder KR	-	-
<i>Salmonella typhi</i>	S	AR oder KR	-	-
<i>Salmonella paratyphi</i>	S	AR oder KR	+	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	S	AR oder KR	+	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	S	AR oder KR	+	+

Qualitätskontrolle

Keim	Hochschicht	Schrägfläche	Gasbildung	H ₂ S-Bildung
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	S	S	+	-
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	S	S	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	AR	AR	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	S	AR	+	+

Erklärung der Abkürzungen

S = Säurebildung (Umschlag nach Gelb)

AR = Alkalibildung (Umschlag nach Rot)

KR = Keine Änderung der ursprünglichen Nährbodenfarbe

+ = Schwärzung durch Schwefelwasserstoff-Bildung*

- = Keine Schwärzung durch Schwefelwasserstoff-Bildung*

* siehe Beschreibung

Bebrütung: 18-24 Stunden bei 36°C

Nährböden

Es ist erwogen worden, Kligler-Eisen-Agar gegen den Dreizucker-Eisen-Agar zum Nachweis der H₂S-Bildung von *Enterobacteriaceae* auszutauschen. Inzwischen ist bekannt, daß Dreizucker-Eisen-Agar nicht zum Nachweis der H₂S-Bildung bei Saccharose-positiven Keimen wie *Citrobacter* und *Proteus* geeignet ist. Die Saccharose-Spaltung verdeckt in diesem Fall den Indikator für H₂S-Bildung im Nährboden⁶.

Dreizucker-Eisen-Agar wird zur vorläufigen Identifizierung von Kolonien oder Subkulturen von Nährböden wie Salmonella-Shigella-Agar, mod. (OXOID, Art.-Nr. CM 533), Bismutsulfit-Agar, mod. (OXOID, Art.-Nr. CM 201), Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose-Agar USP (OXOID, Art.-Nr. CM 263), MacConkey-Nährboden Nr. 3 (OXOID, Art.-Nr. CM 115) oder Desoxycholat-Citrat-Agar nach Hynes (OXOID, Art.-Nr. CM 227) empfohlen.

Kulturverfahren

Die in den USA geltenden Kulturverfahren sind der Literatur zu entnehmen^{7,8}. Das hier vorgeschlagene Verfahren erscheint etwas einfacher.

1. Eine einzeln liegende Kolonie von der Oberfläche des Selektivnährbodens auf MacConkey-Nährboden (OXOID, Art.-Nr. CM 7) austreichen.
2. 18 Stunden bei 36°C bebrüten.
3. Zwei separate Röhrchen mit einer einzeln liegenden Kolonie beimpfen:
 - a) Dreizucker-Eisen-Agar: Auf der Schrägfläche austreichen und die Hochschicht durch Stich beimpfen.
 - b) Harnstoff-Pepton-Lösung (OXOID, Art.-Nr. CM 71 + SR 40) beimpfen.
4. Bei 36°C bebrüten.
5. Harnstoff-Pepton-Lösung nach 5 und nach 18 Stunden ablesen. Röhrchen mit roter oder rosa Färbung verwerfen, diese entsteht durch Harnstoff-Spaltung von *Proteus* oder andere Keimen.
6. Bei Röhrchen, die keine Harnstoffspaltung zeigen, die entsprechenden parallelen Dreizucker-Eisen-Agar-Röhrchen nach 18 und nach 48 Stunden ablesen.

Vorläufig identifizierte Kolonien können von der Schrägfläche des Dreizucker-Eisen-Agars entnommen werden und zur serologischen Bestätigung in Nährbouillon Nr. 2 (OXOID, Art.-Nr. CM 67) subkultiviert werden.

Reaktionen nach 18-24 Stunden Bebrütung bei 36°C

Abbau von Glucose

Schrägfläche rot, Hochschicht gelb

Abbau von Laktose und Saccharose

Schrägfläche gelb, Hochschicht gelb

Bildung von H₂S

Schwarzfärbung der Hochschicht

Gasbildung

Blasenbildung bzw. Risse im Bereich der Hochschicht

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Literatur

1. ISO 6579 (1993) "Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp".
2. 2.6.13. Mikrobiologische Prüfung nicht steriler Produkte in: Europäisches Arzneibuch Nachtrag 2001.
3. DIN EN 12824: "Horizontales Verfahren zum Nachweis von Salmonellen".
4. DGHM (Lieferung 2, 1983) "Verfahrensrichtlinien für die Mikrobiologische Diagnostik". Kap. 2.1, S. 20.
5. BGA: "Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG". L 00.00-20: "Nachweis von Salmonellen".
6. Bulmash, J.M. und Fulton, M. (1966) *J. Bacteriol.* 88, 1813.
7. APHA (1976) "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". APHA Inc., Washington, D.C.
8. Edwards, P.R. und Ewing, W.H. (1972) "Identification of *Enterobacteriaceae*". 3rd Edn., Burgess Publishing Co., Minneapolis, USA.