

MacConkey-Sorbit-Nährboden

bzw.

Sorbit-MacConkey-Nährboden

Art.-Nr. CM 813

Zum Nachweis von *Escherichia coli* Serogruppe O157:H7.

| Typische Zusammensetzung | (g/l) |
|--------------------------|-------|
| Pepton | 20,0 |
| Sorbit | 10,0 |
| Gallensalze Nr. 3 | 1,5 |
| Natriumchlorid | 5,0 |
| Neutralrot | 0,03 |
| Kristallviolett | 0,001 |
| Agar | 15,0 |
| pH 7,1 ± 0,2 | |

Zubereitung

51,5 g Sorbit-MacConkey-Nährboden in 1 l Aqua dest. suspendieren und bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 15 Minuten bei 121°C autoklavieren.

Beschreibung

Seit 1982 wurden mehrere Fälle einer sporadischen oder epidemischen hämorrhagischen Colitis beobachtet, bei denen *Escherichia coli* der Serogruppe O157:H7 aus blutigem Stuhl isoliert wurde¹⁻³. Es wurde auch über einen Zusammenhang zwischen einer *E. coli* O157:H7-Infektion und dem hämolytischen, urämischen Syndrom (HUS) berichtet^{4,5}. *E. coli* der Serogruppe O157:H7 bilden ein Zytotoxin, das auf Verotoxinen toxisch wirkt und deshalb als Verotoxin bezeichnet wird^{4,6}. *E. coli* O157:H7 gehört zu den Verotoxin-bildenden *E. coli* (VTEC) bzw. zu den enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC). Zu den EHEC gehören z.B. auch *E. coli* der Serogruppen O26:H11 und O111:H8. Die Bildung des Verotoxins ist mit einem Virulenz-Plasmid gekoppelt, wobei das Toxin mit einem von Shigellen gebildeten Toxin immunologisch identisch ist^{7,8}.

Von *E. coli* O157:H7-Infektionen sind besonders ältere Menschen und Kinder mit schweren Krankheitsbildern betroffen; bis zu 20% der Erkrankungen verlaufen bei diesen Personengruppen letal^{4,9}. Bei blutigem Stuhl sollte deshalb bei der Diagnostik auch an eine EHEC-Infektion gedacht werden.

Da der Nachweis des Verotoxins in Stuhl aufwendig ist, sollte der erste Schritt die Identifizierung von *E. coli* O157:H7 sein. Im Gegensatz zu den meisten *E. coli*-Stämmen kann *E. coli* O157:H7 kein Sorbit verwerten. Bei Verdacht auf eine Infektion mit diesem Keim ist es deshalb sinnvoll, den Sorbit-MacConkey-Nährboden einzusetzen, bei dem Lactose durch Sorbit ersetzt wurde¹⁰.

Der Sorbit-MacConkey-Nährboden basiert auf einer Rezeptur von Rappaport und Henig¹¹. Auf diesem Nährboden sind *E. coli* O157:H7 deutlich als farblose Kolonien zu erkennen, da andere Sorbit-negative Kolonien nur 10-15% der Begleitflora ausmachen¹². Im Gegensatz dazu bilden Sorbit-positive *E. coli* rosafarbene Kolonien. Weitere biochemische Merkmale dieser Serogruppe O157:H7 sind die Raffinoseverwertung und fehlende Bildung von β -Glucuronidase¹³. March und Ratnam beschrieben, daß

Nährböden

der Nachweis von *E. coli* O157:H7 auf dem Sorbit-MacConkey-Nährboden eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 85% zeigt¹². Die Unterscheidung von anderen gramnegativen Keimen wie z.B. *Pseudomonas*, *Proteus* und *Klebsiella* spp., die gleichfalls farblos auf dem Sorbit-MacConkey-Nährboden wachsen können, ist anhand der Koloniform möglich.

Das O157-Antigen kann bei den Sorbit-negativen *E. coli* mit dem *E. coli* O157 Latex-Test (OXOID, Art.-Nr. DR 620) bzw. dem Dryspot *E. coli* O157 (OXOID, Art.-Nr. DR 120) nachgewiesen werden.

Kulturverfahren

1. Platten so beimpfen, daß Einzelkolonien erhalten werden.
2. Platten 24 Stunden bei 36°C bebrüten.
36°C ist für *E. coli* O157:H7⁸ die optimale Wachstumstemperatur. Dieser Serotyp zeigt bei 44°C auch nach 48 Stunden Bebrütung nur schlechtes Wachstum.
3. Platten nach 24 Stunden auswerten. (Bei längerer Bebrütung nimmt die Farbintensität der Sorbit-positiven Kolonien ab; der Kontrast zu den Sorbit-negativen Kolonien wird schlechter erkennbar.)
4. Sorbit-negative *E. coli* mit dem *E. coli* O157 Latex-Test (OXOID, Art.-Nr. DR 620) bzw. dem Dryspot *E. coli* O157 (OXOID, Art.-Nr. DR 120) bestätigen.

Werden hohe Keimzahlen gramnegativer Begleit-Organismen erwartet, kann die Selektivität des Nährbodens durch Zugabe von Cefixim-Tellurit-(CT)-Selektiv-Supplement (OXOID, Art.-Nr. SR 172) erhöht werden.

Koloniemorphologie

E. coli O157:H7 (Sorbit-negativ)

Farblose Kolonien in für *E. coli* typischer Koloniform.
Sorbit-positive Keime
Rosafarbene Kolonien.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle:

Escherichia coli O157:H7 NCTC 12900

Negativkontrolle:

Escherichia coli ATCC 25922

Zusätzliche Hinweise

Der besonders aus Lebensmitteln isolierte Keim *E. hermannii* ist gleichfalls Sorbit-negativ. Dieser Keim wurde allerdings noch nicht als Erreger einer Gastroenteritis isoliert, kann jedoch durch seine gelbe Pigmentierung, KCN-Resistenz sowie positive Cellobiose-Reaktion von *E. coli* unterschieden werden¹⁴. Bei Verdacht auf eine *E. coli* O157-Infektion sollte deshalb stets eine Bestätigung mit dem *E. coli* O157 Latex-Test erfolgen.

Literatur

1. Johnson, W.M. et al. (1983) Lancet I, 76.
2. Pai, C.H. et al. (1984) Ann. In. Med. 101, 738-742.
3. Remis, R.S. et. al. (1984) Ann. Int. Med. 101, 624-626.

4. Karmali. M.A. et al. (1983) Lancet I, 619-620.
5. Gransden, W.R. et al. (1986) J. Infect. Dis. 154, 522-524.
6. Konowalchuk, J. Speirs, J.I. und Stavric, S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
7. O'Brain, A.D. et al. (1983) Lancet I, 573.
8. O'Brian, A.D. und Holmes, R.K. (1987) Microbiol. Rev. 51, 206-220.
9. Pudden, D. et al. (1985) Can. Dis. Wkly Rep. 11, 169-170.
10. Center of Disease Control (1982) Morbid Mortal. Wkly. Rep. 31, 580-585.
11. Rappaport, F. und Henig, E. (1952) J. Clin. Path. 5, 361.
12. March, S.B. und Ratnam, S. (1986) J. Clin. Microbiol. 23, 869-872.
13. Krishnam, C. et al. (1987) J. Clin. Microbiol. 25, 1043-1047.
14. Borczyk, A.A., Lior, H. und Ciebin, B. (1987) Int. J. Food Microbiol. 4, 347-349.