Bundesinsitut für Risikobewertung
Nationales Referenzlabor für Escherichia coli
einschließlich verotoxinbildende E. coli (NRL-E. coli)

Kontakt: vtec@bfr.bund.de
Tel.: +49 30 18412-7420-4 / -8

Bundesinstitut für Risikobewertung

Ad-hoc Protokoll zur Isolatgewinnung im Rahmen des EHEC/HUS-Ausbruches 2025 gemäß den Erregereigenschaften des RKI Erregersteckbriefs (RKI: Epidemiologisches Bulletin 37/2025 vom 11.9.2025)

Folgende Verfahren können eingesetzt werden, um die Isolierung des Erregerstammes zu erleichtern. Diese Methoden können ergänzend zu den im Labor etablierten, akkreditierten Methoden verwendet werden:

1. Säureschritt zur Reduzierung der Hintergrundmikrobiota nach der amtlichen Methode § 64 LFGB 25.00-6 März 2025
   Beschreibung: nach der Inkubation in Nährlösung (z.B. gep. Peptonwasser nach L25.00-6) wird ein Säureschock mit TSB pH2 verwendet um die Hintergrundmikrobiota zu reduzieren. Vorabtest mit dem Ausbruchstamm im NRL *E. coli* zeigten eine vergleichbare Säuretoleranz des Ausbruchstammes zu „gängigen“ STEC.

2. Verwendung von Antibiotika zur Gewinnung von Einzelkolonien aus Anreicherungen etc.
   Beschreibung: Der Ausbruchstamm zeigt sich resistent gegenüber Kanamycin. Im NRL E. coli wurde die Zugabe von Kanamycin (finale Konzentration 30 µg/ml) zu TBX-Nähragarplatten (TBX+Kan30) zur Reduzierung der Hintergrundmikrobiota verwendet. Parallel bzw. zusätzlich zum akkreditierten Verfahren können Anreicherungen auf TBX+Kan30 Agarplatten ausplattiert werden oder verdächtige Kolonien werden im Analyseverlauf auf TBX+Kan30 zur Überprüfung subkultiviert. Neben TBX-Agar kann auch anderen Nährmedien Kanamycin zugesetzt werden. Im NRL *E. coli* wurde bisher nur die Kombination aus TBX und Kan30 geprüft.

3. Verwendung von Agardiffusionsplättchen zur Prüfung von verdächtigen Einzelkolonien
   Beschreibung: Der Ausbruchstamm zeigt sich unter anderem resistent gegenüber Tetracyclin, Kanamycin und Trimethoprim/Sulfmethoxazol (siehe Erregersteckbrief). Im NRL *E. coli* wurden Agardiffusionsplättchen (Tetracyclin 30 & Trimethoprim/Sulfmethoxazol 25) verwendet, um jeweils sensitive Isolate/Stämme auszuschließen. Hierzu wurden die Plättchen im Anstrich eines Vereinzelungsaustrichs auf Columbia-Agar mit Schafblut aufgelegt. Nach Bebrütung nach Standardbedingungen wurden die Hemmhöfe nach EUCAST & CLSI interpretiert (Tetracyclin S≥14 mm nach CLSI M100-S17; Trimethoprim/Sulfmethoxazol S≥14 mm nach EUCAST v15).

Hinweis: Die angegebenen Antibiotika dienen mit Verweis auf den Erregersteckbrief des RKI vom 11.9.2025) nur der Vorselektion verdächtiger Isolate/Stämme.