



www.thermofisher.com

Physical Appearance

Colour	Traffic Red
Clarity	Opaque
Fill weight	19.0 ± 2.0g
pH	7.1 ± 0.2

Enterohaemolysin Agar with Blood

REF PB5105A

Intended Use

Enterohaemolysin Agar with Blood (PB5105A) is a medium for the detection and isolation of enterohaemolysin-producing enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) from faecal samples. It can also be used for testing non-clinical samples.

The device is used in a diagnostic workflow to aid clinicians in determining potential treatment options for patients suspected of having EHEC infections. The device is for professional use only, is not automated nor is a companion diagnostic.

Summary and Explanation

Escherichia coli are Gram-negative, facultative anaerobic organisms that frequently account for part of the composition of the intestinal flora of endotherms. A majority of *E. coli* strains are harmless, and simply exist in the microflora of the bowels, however, certain strains can cause superficial, severe and life-threatening diseases. Examples of superficial disease caused by *E. coli* include diarrhoea and urinary tract infections. Certain strains of *E. coli*, however, produce Shiga toxin. These strains are known as enterohaemorrhagic *E. coli*, or EHEC, although they are also referred to as Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) and verocytotoxic *E. coli* (VTEC).

EHEC produce Shiga toxins that thrive in an optimal temperature of 37 °C, the typical mammalian body temperature. They can also grow in acidic environments, and in foods with low water activity. Contaminated foods and faecal contamination in water are the most common causes of EHEC infection. The main indicator of EHEC is the formation of so-called Shiga-like toxins (SLTs), also called verotoxins. In addition to the best known EHEC of the serological group O157, the toxin-forming *E. coli* of the serological groups O26, O111 and others are also among the EHECs. EHEC can cause severe to life-threatening disease, and up to 10% of infected patients may develop haemolytic uraemic syndrome (HUS), which in turn can lead to thrombocytopenia, acute kidney failure and haemolytic anaemia. As a result, some patients may experience neurological complications which can be debilitating (WHO, 2018).

Principle of Method

Enterohaemolysin Agar with Blood is composed of Thermo Scientific™ Columbia Blood Agar Base (CM0331) with the addition of washed sheep erythrocytes. The base medium provides the nutrients necessary for bacterial growth and the addition of washed sheep erythrocytes, whilst providing additional nutrients, allows for the differentiation of organisms based on haemolytic activity.

Typical Formula

	g/l
Columbia Blood Agar Base	39.0
Calcium Chloride	1.47
Washed Sheep Erythrocytes	40.0 ml

Materials Provided

PB5105A: 10 x 90mm Enterohaemolysin Agar with Blood plates.

Each plate should only be used once.

Materials Required but Not Supplied

- (1) Inoculating loops
- (2) Swabs
- (3) Collection containers
- (4) Incubators
- (5) Quality control organisms

Storage

- Store product in its original packaging at 2–12°C until used.
- The product may be used until the expiry date stated on the label.
- Store away from light.
- Allow product to equilibrate to room temperature before use.
- Do not incubate prior to use.

Warnings and Precautions

- For in vitro diagnostic use only.
- For professional use only.
- Inspect the product packaging before first use.
- Do not use the product if there is any visible damage to the packaging or plates.
- Do not use the product beyond the stated expiry date.
- Do not use the device if signs of contamination are present.
- Do not use the device if the colour has changed or there are other signs of deterioration.
- It is the responsibility of each laboratory to manage waste produced according to their nature and degree of hazard and to have them treated or disposed of in accordance with any federal, state and local applicable regulations. Directions should be read and followed carefully. This includes the disposal of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable material following procedures for infectious or potentially infectious products.

Refer to the Safety Data Sheet (SDS) for safe handling and disposal of the product (www.thermofisher.com)

Serious Incidents

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the relevant regulatory authority in which the user and/or the patient is established.

Specimen Collection, Handling and Storage

There are no specimen collection and/or transport materials provided with the devices. Specimens should be collected and handled following local recommended guidelines, such as the UK Standards for Microbiology Investigations (UK SMI) ID 22 and Q 5. These guidelines include references to the appropriate techniques for collection, collection

containers, and the optimal transport and storage conditions to be used to avoid contamination.

Procedure

For Clinical Samples

- Inoculate the enterohaemolysin agar directly with the sample, e.g. stool.
- For better detection of early haemolysis, the enterohaemolysin agar should be pierced with the inoculating loop. Samples can also be enriched overnight in Tryptone Soya Broth, modified with novobiocin (mTSB+n) (CM0989 + SR0181).
- Incubate at 36°C.
- Visually inspect plates to assess colony growth and colour under good lighting.

Interpretation

Haemolysis caused by *E. coli* α -haemolysin is visible after 3-4 hours of incubation at 36°C as a lightening around the inoculation point and in places where a confluence of bacterial growth occurs.

Haemolysis caused by enterohaemolysin is visible after approx. 20 hours of incubation at 36°C. Generally, enterohaemolysin-forming (E-Hly⁺) *E. coli* exhibit smaller and cloudier haemolysis regions than α -haemolysin producers.

To make enterohaemolysis clearly visible among the colonies (for very small haemolysis halos arising in isolation), the bacteria can be removed from the agar with the loop. The isolated bacteria must be confirmed as EHECs by verifying toxin formation.

Quality Control

It is the responsibility of the user to perform Quality Control testing taking into account the intended use of the medium, and in accordance with any local applicable regulations (frequency, number of strains, incubation temperature etc.).

The performance of this product can be verified by testing the following reference strains.

Positive Controls	Growth
Inoculum: 10 ³ – 10 ⁴ colony forming units (cfu) Incubation: 18 – 25 h @ 37 \pm 2°C, aerobic	
<i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 700728 [™]	Good growth, grey colonies, enterohaemolysin positive
<i>Escherichia coli</i> DSM 10830	Good growth, grey colonies
<i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 [™]	Good growth, cream colonies with haemolysis

Limitations

Samples containing faecal material or blood may cause some localised discolouration within the medium. Interfering substances carrying across when transferring the sample onto the medium is a recognised potential risk. To minimise such an occurrence, requirements for specimen collection, handling and storage of samples must be followed.

Performance Characteristics

Accuracy has been demonstrated through review of the QC data. Correct detection of *Escherichia coli* is confirmed by the inclusion of a well-characterised isolate in the QC processes performed as part of the manufacture of each















batch of the device. The precision of Enterohaemolysin Agar with Blood (PB5105A) was demonstrated by an overall pass rate of 100% obtained for the product over three months of testing (March – December 2021; 10 batches). This shows that the performance is reproducible.

The devices are tested in-house as part of the QC process. For target organisms, when using 10⁴ cfu inoculum of *Escherichia coli* and incubating the device at 37°C \pm 2°C for 18-25 hours, the user can recover organisms with the appropriate morphology as listed in this document.

Bibliography

1. World Health Organisation. 2018. 'E. coli'. Accessed online January 20 2022. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

Symbol Legend

Symbol	Definition
	Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Batch code
	Temperature limitation (storage temp.)
	Use by (expiration date) YYYY-MM
	Keep away from sunlight
	Do not re-use
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for <n> tests
	Do not use if packaging damaged
	Manufacturer
	Authorized representative in the European Community
	European Conformity Mark
	UK Conformity Mark

Made in Germany	Made in Germany
-----------------	-----------------

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.
ATCC and ATCC catalogue marks are a trademark of American Type Culture Collection.
NCTC and NCTC catalogue marks are a trademark of National Collection of Type Cultures.



Oxoid GmbH, Am Lippeglacis 4-8, 46483
Wesel, Germany.



For technical assistance please contact your local distributor.

Revision Information

Version	Date of issue and modifications introduced
1.0	2022-08-04. New document. (LIVE)

Enterohaemolysin Agar with Blood

REF PB5105A

Verwendungszweck

Enterohämolytin-Agar mit Blut (PB5105A) ist ein Medium für den Nachweis und die Isolierung von Enterohämolytin produzierenden enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) aus fäkalen Proben. Es kann auch für die Untersuchung nicht-klinischer Proben verwendet werden. Das Produkt wird in einem diagnostischen Arbeitsablauf verwendet, um Klinikern bei der Bestimmung möglicher Behandlungsoptionen für Patienten mit Verdacht auf EHEC-Infektionen zu helfen. Das Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt, es ist weder automatisiert noch eine Begleitdiagnose.

Zusammenfassung und Erläuterung

Escherichia coli sind gramnegative, fakultativ anaerobe Organismen, die häufig einen Teil der Zusammensetzung der Darmflora von Endothermen ausmachen. Die meisten *E. coli*-Stämme sind harmlos und existieren einfach in der Mikroflora des Darms, aber bestimmte Stämme können oberflächliche, schwere und lebensbedrohliche Krankheiten verursachen. Beispiele für oberflächliche Erkrankungen, die durch *E. coli* verursacht werden, sind Durchfall und Harnwegsinfektionen. Bestimmte Stämme von *E. coli* produzieren jedoch Shiga-Toxin. Diese Stämme sind als enterohämorrhagische *E. coli* oder EHEC bekannt, obwohl sie auch als Shiga-Toxin produzierende *E. coli* (STEC) und verotoxigene *E. coli* (VTEC) bezeichnet werden.

EHEC produzieren Shiga-Toxine, die bei einer optimalen Temperatur von 37 °C, der typischen Körpertemperatur von Säugetieren, gedeihen. Sie können auch in saurem Milieu und in Nahrungsmitteln mit geringer Wasseraktivität wachsen. Kontaminierte Lebensmittel und fäkale Verunreinigungen im Wasser sind die häufigsten Ursachen für eine EHEC-Infektion. Der Hauptindikator für EHEC ist die Bildung sogenannter Shiga-ähnlicher Toxine (SLTs), auch Verotoxine genannt. Neben dem bekanntesten EHEC der serologischen Gruppe O157 gehören auch die toxinbildenden *E. coli* der serologischen Gruppen O26, O111 und andere zu den EHECs. EHEC kann schwere bis lebensbedrohliche Erkrankungen verursachen. Bis zu 10 % der infizierten Patienten können ein hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) entwickeln, das wiederum zu Thrombozytopenie, akutem Nierenversagen und hämolytischer Anämie führen kann. Infolgedessen kann es bei einigen Patienten zu neurologischen Komplikationen kommen, die schwächend sein können (WHO, 2018).

Das Prinzip der Methode

Enterohämolytin-Agar mit Blut besteht aus Thermo Scientific™ Columbia-Blutagar-Basis (CM0331) mit dem Zusatz von gewaschenen Schafserythrozyten. Das Basismedium liefert die für das Bakterienwachstum notwendigen Nährstoffe. Die Zugabe von gewaschenen Schafserythrozyten liefert zwar zusätzliche Nährstoffe, ermöglicht aber auch die Differenzierung der Organismen anhand ihrer hämolytischen Aktivität.

Typische Formel

	g/l
Columbia-Blutagar-Basis	39,0
Kalziumchlorid	1,47
Gewaschene Schaf-Erythrozyten	40,0 ml

Physische Erscheinung

Farbe	Verkehrsrötlich
Klarheit	Undurchsichtig
Gewicht der Füllung	19,0 ± 2,0 g
pH	7,1 ± 0,2

Mitgeliefertes Material

PB5105A: 10 x 90 mm Enterohämolytin-Agar mit Blut-Platten.

Jede Platte sollte nur einmal verwendet werden.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

- (1) Inokulationsösen
- (2) Tupfer
- (3) Entnahmebehälter
- (4) Inkubatoren
- (5) Organismen für die Qualitätskontrolle

Lagerung

- Lagern Sie das Produkt bis zur Verwendung in der Originalverpackung bei 2–12 °C.
- Das Produkt kann bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendet werden.
- Vor Licht geschützt aufbewahren.
- Lassen Sie das Produkt vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen.
- Vor der Verwendung nicht inkubieren.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für die In-vitro-Diagnostik geeignet.
- Nur für den professionellen Gebrauch.
- Überprüfen Sie die Produktverpackung vor dem ersten Gebrauch.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn es sichtbare Schäden an der Verpackung oder den Platten aufweist.
- Verwenden Sie das Produkt nicht nach Ablauf des angegebenen Verfallsdatums.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn es Anzeichen von Verschmutzung aufweist.
- Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn sich die Farbe verändert hat oder andere Anzeichen einer Verschlechterung vorliegen.
- Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die anfallenden Abfälle entsprechend ihrer Art und ihres Gefährdungsgrades zu behandeln und sie in Übereinstimmung mit den auf Bundes-, Landes- und lokaler Ebene geltenden Vorschriften zu behandeln oder zu entsorgen. Die Gebrauchsanweisung sollte sorgfältig gelesen und befolgt werden. Dazu gehört auch die Entsorgung gebrauchter oder unbenutzter Reagenzien sowie aller anderen kontaminierten Einwegmaterialien gemäß den Verfahren für infektiöse oder potenziell infektiöse Produkte.

Beachten Sie das Sicherheitsdatenblatt (SDB) für die sichere Handhabung und Entsorgung des Produkts (www.thermofisher.com)

Schwere Zwischenfälle

Alle schwerwiegenden Vorkommnisse, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, müssen dem Hersteller sowie der zuständigen Aufsichtsbehörde des Landes, in dem der Benutzer und/oder Patient ansässig ist, gemeldet werden.

Entnahme, Handhabung und Lagerung von Proben

Im Lieferumfang der Produkte ist kein Material zur Probenentnahme und/oder zum Transport enthalten. Die Probenentnahme und -behandlung sollte gemäß den vor Ort empfohlenen Richtlinien erfolgen, wie z. B. den UK Standards for Microbiology Investigations (UK SMI) ID 22 und Q 5. Diese Richtlinien enthalten Hinweise auf geeignete Entnahmetechniken, Entnahmebehälter und optimale Transport- und Lagerungsbedingungen, um eine Kontamination zu vermeiden.

Verfahren

Für klinische Proben

- Inokulieren Sie den Enterohämolsin-Agar direkt mit der Probe, z. B. Stuhl.
- Um eine frühe Hämolyse besser erkennen zu können, sollte der Enterohämolsin-Agar mit der Impfschlaufe durchstochen werden. Die Proben können auch über Nacht in Trypton-Soja-Bouillon, modifiziert mit Novobiocin (mTSB+n) (CM0989 + SR0181), angereichert werden.
- Inkubieren Sie bei 36 °C.
- Untersuchen Sie die Platten visuell, um das Wachstum und die Farbe der Kolonien bei guter Beleuchtung zu beurteilen.

Interpretation

Die durch *E. coli* α -Hämolsin verursachte Hämolyse ist nach 3–4 Stunden Inkubation bei 36 °C als Aufhellung um die Inokulationsstelle und an Stellen sichtbar, an denen ein Zusammenfluss des Bakterienwachstums auftritt.

Eine durch Enterohämolsin verursachte Hämolyse ist nach ca. 20 Stunden Inkubation bei 36 °C. Im Allgemeinen weisen entero-Hämolsin-bildende (E-Hly⁺) *E. coli* kleinere und trübere Hämolysebereiche auf als α -Hämolsin-Produzenten.

Um die Enterohämolyse unter den Kolonien deutlich sichtbar zu machen (bei sehr kleinen Hämolyse-Halos, die in der Isolation entstehen), können die Bakterien mit der Schlinge vom Agar entfernt werden. Die isolierten Bakterien müssen durch den Nachweis der Toxinbildung als EHEC-Bakterien bestätigt werden.

Qualitätskontrolle

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, Qualitätskontrolltests unter Berücksichtigung der beabsichtigten Verwendung des Mediums und in Übereinstimmung mit allen vor Ort geltenden Vorschriften (Häufigkeit, Anzahl der Stämme, Inkubationstemperatur usw.) durchzuführen.

Die Leistung dieses Produkts kann durch Testen der folgenden Referenzstämme überprüft werden.

Positiv-Kontrollen Wachstum	
Inokulum: 10 ³ –10 ⁴ koloniebildende Einheiten (KBE) Inkubation: 18–25 h bei 37 °C ± 2 °C, aerob	
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 700728™	Gutes Wachstum, graue Kolonien, Enterohaemolsin-positiv

<i>Escherichia coli</i> DSM 10830	Gutes Wachstum, graue Kolonien
<i>Escherichia coli</i> ATCC®25922™	Gutes Wachstum, cremefarbene Kolonien mit Hämolyse

Einschränkungen

Proben, die fäkalienhaltiges Material oder Blut enthalten, können eine lokale Verfärbung des Mediums verursachen. Störende Substanzen, die beim Transfer der Probe auf das Medium übertragen werden, stellen ein anerkanntes potenzielles Risiko dar. Um ein solches Ereignis zu minimieren, müssen die Anforderungen an die Probenentnahme, die Handhabung und die Lagerung der Proben eingehalten werden.

Leistungsmerkmale








Die Genauigkeit wurde durch die Überprüfung der QK-Daten nachgewiesen. Der korrekte Nachweis von *Escherichia coli* wird durch die Aufnahme eines gut charakterisierten Isolats in die QK-Prozesse bestätigt, die im Rahmen der Herstellung jeder Charge des Produkts durchgeführt werden. Die Präzision von Enterohaemolsin-Agar mit Blut (PB5105A) wurde durch eine Gesamtpassiertrate von 100 % nachgewiesen, die für das Produkt über einen Zeitraum von drei Monaten (März – Dezember 2021; 10 Chargen) erzielt wurde. Dies zeigt, dass die Leistung reproduzierbar ist.

Die Produkte werden im Rahmen des QK-Prozesses intern getestet. Für Zielorganismen: Wenn Sie 10⁴ KBE *Escherichia coli* als Inokulum verwenden und das Produkt 18–25 Stunden bei 37 °C ± 2 °C inkubieren, können Sie Organismen mit der entsprechenden Morphologie, wie in diesem Dokument aufgeführt, gewinnen.

Bibliographie

1. World Health Organisation. 2018. 'E. coli'. Accessed online January 20 2022. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

Symbollegende

Symbol	Definition
	Katalognummer
	Medizinprodukt zum In-vitro-Diagnostikum
	Chargencode
	Temperaturbegrenzung (Lagertemp.)
	Verwendung bis (Verfallsdatum) JJJJ-MM
	Vom Sonnenlicht fernhalten
	Nicht wiederverwenden

	Gebrauchsanweisung konsultieren
	Enthält ausreichend für <n> Tests
	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist
	Hersteller
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft
	Europäisches Konformitätskennzeichen
	Konformitätskennzeichen des Vereinigten Königreichs
Hergestellt in Deutschland	Hergestellt in Deutschland

© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten.
 ATCC und ATCC-Katalogmarken sind eine Marke der American Type Culture Collection.
 NCTC und NCTC-Katalogmarken sind eine Marke der National Collection of Type Cultures.



Oxoid GmbH, Am Lippeglacis 4–8,
46483 Wesel, Deutschland.



Für technische Unterstützung wenden Sie sich bitte an Ihren örtlichen Händler.

Informationen zur Revision

Version	Ausgabedatum und vorgenommene Änderungen
1.0	2022-08-04. Neues Dokument. (LIVE)