

## BD MacConkey Agar with Sorbitol

### VERWENDUNGSZWECK

**BD MacConkey Agar with Sorbitol**, auch bekannt als Sorbitol-MacConkey-Agar (SMAC), ist ein teilweise selektives Medium zur Isolierung von *E. coli* O157:H7 aus klinischen Proben.

### GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Enterohämorrhagischer *E. coli* (EHEC) O157:H7 wurde erstmals 1982 als menschlicher Erreger erkannt.<sup>1</sup> Bis heute ist der Serotyp O157:H7 bei weitem der am häufigsten für diese Erkrankung ursächliche Erreger, obwohl gelegentlich auch andere *E. coli* Serotypen an dieser oder ähnlichen Infektionen beteiligt sein können.<sup>2</sup>

Auf Grund der Produktion Shiga-ähnlicher Toxine (SLT, Verocytotoxin), ist der Serotyp O157:H7 von *E. coli* für seine Beteiligung an Diarrhö, schwerer enterohämorrhagischer Colitis und dem hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) bekannt. Epidemiologisch ist das Syndrom eine durch Nahrungsmittel übertragene Erkrankung, oftmals im Zusammenhang mit zu kurz gekochtem oder gebratenem Rindfleisch oder anderen Nahrungsmitteln aus tierischen Quellen, wie z.B. Rohmilch.<sup>2-5</sup>

Üblicherweise unterscheiden sich O157-Stämme von normalen *E. coli*-Stämmen dadurch, dass sie Sorbit- und Beta-Glukuronid ( $\beta$ -Gluk)-negativ sind. Deshalb können sie mit Hilfe von biochemischen Mitteln von normalen *E. coli* differenziert werden, wenn die geeigneten Substrate in die bakteriologischen Medien integriert werden. Sorbit-MacConkey-Agar (= SMAC) war eines der ersten zur Isolierung dieser Organismen verwendeten Medien.<sup>6,7</sup>

MacConkey-Agar mit Sorbit ist eine Modifikation der von Rappaport und Henig angegebenen Rezeptur zur Isolierung von enteropathogenen *Escherichia coli* der Serotypen O11 und O55.<sup>8</sup> Die Eignung dieses Mediums zum Nachweis von *E. coli* O157:H7, einem menschlichen Erreger, welcher mit hämorrhagischer Colitis in Zusammenhang gebracht wird, wurde beschrieben.<sup>9-11</sup> In diesem Medium wird D-Sorbit anstelle von Lactose zur Isolierung und Differenzierung der enteropathogenen *E. coli* Serotypen verwendet, welche dazu neigen, Sorbit-negativ zu sein. Es kann für klinische Tests und zur Untersuchung von Nahrungsmitteln verwendet werden.<sup>8-13</sup>

In **BD MacConkey Agar with Sorbitol** agieren Peptone als Stickstoffquellen. D-Sorbit ist ein fermentierbares Kohlenhydrat. Die meisten hämorrhagischen *E. coli*-Stämme fermentieren D-Sorbit nicht und erscheinen auf MacConkey-Sorbit-Agar als farblose Kolonien. Gallensalze und Kristallviolett sind selektive Agenzien, welche das Wachstum von grampositiven Organismen hemmen. Neutralrot wirkt als pH-Indikator.

### REAGENZILIEN

#### **BD MacConkey Agar with Sorbitol**

Ungefähre Zusammensetzung\* pro Liter destilliertem Wasser

Peptone	20,0 g
D-Sorbit	10,0
Gallensalze	1,5
Natriumchlorid	5,0
Neutralrot	0,03
Kristallviolett	0,001
Agar	15,0

pH 7,1  $\pm$  0,2

\*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

### VORSICHTSMASSNAHMEN

**IVD** . Nur für den professionellen Gebrauch. 

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.  
Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

### LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch im Dunkeln bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

### QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten 18 – 24 h bei 35 – 37 °C inkubieren.

Stämme	Wachstum
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 NCTC 12900* (Sorbit-negativ)	Gutes bis sehr gutes Wachstum; farblose oder beigefarbene Kolonien
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (Sorbit-positiv)	Wachstum; rosafarbene bis pinkfarbene Kolonien
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum

\* NCTC 12900 wird für routinemäßige Qualitätskontrollen empfohlen, da es keine Toxine produziert. Der Stamm ist erhältlich bei National Collection of Type Cultures, London, UK. Für weitere Informationen, siehe [www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefsets.htm](http://www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefsets.htm)

### VERFAHREN

#### Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

**BD MacConkey Agar With Sorbitol** (90 mm **Stacker-Platten**). Mikrobiologisch kontrolliert.

#### Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

#### Probenarten

Dieses Medium wird zur Isolierung von *Escherichia coli* O157:H7 (und anderen Sorbit-negativen Serotypen) aus Stuhlproben von Patienten mit Verdacht auf Infektion mit diesem Erreger, und aus Nahrungsmittel-, veterinärmedizinischen und Umweltproben (siehe auch

#### LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN).

#### Testverfahren

Die Proben können direkt auf die Platten inokuliert werden oder zuerst vorangereichert werden, z.B. mit selektiver **Trypticase** -Soja-Bouillon oder mittels immunomagnetischer Separierung (IMS) mit **Dynabeads** (gemäß der Gebrauchsanweisung des Herstellers) und danach auf **BD MacConkey Agar with Sorbitol** subkultiviert werden. Voranreicherungsverfahren sind besonders hilfreich, wenn die Proben mit normaler Flora kontaminiert sind.<sup>14,15</sup> Zur Isolierung von *E. coli* O157:H7 direkt aus Fäkalproben, Proben oder Rektalabstriche auf einen kleinen Bereich eines Quadranten inokulieren und von da ausstreichen. Dies erlaubt die Bildung von eigenständigen Kolonien. Außerdem wird die gleichzeitige Inokulierung eines Mediums mit höherer Selektivität empfohlen, z.B. **BD CHROMagar O157**. Platten 18 – 24 h bei 36 ± 2 °C aerob inkubieren.

#### Ergebnisse

Sorbit-fermentierende Organismen produzieren auf **BD MacConkey Agar with Sorbitol** pinkfarbene Kolonien. Organismen, die Sorbit nicht fermentieren, wie z.B. *E. coli* O157:H7, sind farblos. Präsumtiv auf Grund ihrer Farbe identifizierte Kolonien müssen mit Hilfe von

serologischen oder molekularen Verfahren zum Nachweis des Serotyps und/oder der Toxine als *E. coli* O157:H7 bestätigt werden.<sup>6,9,12,13</sup>

## LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

**BD MacConkey Agar with Sorbitol** ist ein Standardmedium zur Isolierung von Sorbit-negativen *E. coli* Serotypen, insbesondere O157:H7, aus klinischen Proben und anderen Materialien.<sup>6-13,16</sup>

Bei verlängerter Inkubation können *E. coli* O157:H7 Sorbit fermentieren.

Die Farbe von Sorbit-positiven Kolonien kann verblassen, was dazu führt, dass sie nur schwer von Sorbit-negativen Kolonien zu unterscheiden sind.

Es existieren weitere Sorbit-negative Stämme von anderen Serotypen außer O157:H7, welche Toxine und klinische Symptome produzieren oder nicht produzieren.<sup>2</sup> **BD MacConkey Agar with Sorbitol** differenziert nicht zwischen Toxin-produzierenden und nicht Toxin-produzierenden Stämmen von *E. coli* O157.

Stämme anderer Organismen, welche Sorbit nicht fermentieren (z.B. *Escherichia hermannii*) können auf MacConkey Sorbit-Agar Wachstum zeigen.

Bestätigende Tests, wie z.B. serologische oder molekulare Verfahren zum Nachweis des Serotyps und/oder der Toxine, sind zur endgültigen Identifizierung von auf **BD MacConkey Agar with Sorbitol** oder anderen Isolierungsmedien für diesen Organismus isolierten *E. coli* O157 Stämmen zwingend notwendig.<sup>2,6,9,12,13</sup>

Ein einzelnes Medium reicht selten zum Nachweis aller potenziellen Erreger in einer Probe aus. Aus diesem Grund wird die gleichzeitige Kultivierung der geeigneten Proben auf **BD CHROMagar O157** empfohlen.

## LITERATUR

1. Riley, L.W. et al. 1983: Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New Engl. J. Med.* 308: 681-685.
2. Kaper, J.B., O'Brien, A.D. (eds.). 1998: *Escherichia coli* O157:H7 and Other Shiga Toxin-Producing *E. coli* strains. American Society for Microbiology, Washington, DC, USA.
3. Dorn, C.R., and E.J. Angrick. 1991. Serotype O157:H7 *Escherichia coli* from bovine and meat sources. *J. Clin. Microbiol.* 29: 1225-1231.
4. Wells, J.G. et al. 1983. Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *J. Clin. Microbiol.* 18: 512-520.
5. Willshaw, G.A., et al. 1994: Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in beefburgers linked to an outbreak of diarrhea, haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndrome in Britain. *Letters Appl. Microbiol.* 19: 304-307.
6. Ewing, W. H., and P. R. Edwards. 1954. Isolation and preliminary identification of *Escherichia coli* serotypes associated with cases of diarrhea of the newborn. *Public Health Lab.* 12:75-81.
7. March, S.B., and S. Ratman. 1986. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23: 869-872.
8. Rappaport, F., and E. Henig. 1952. Media for the isolation and differentiation of pathogenic *Escherichia coli* (serotypes O111 and O55). *J. Clin. Pathology.* 5:361-362.
9. Bopp, C. A., F. W. Brenner, P. I. Fields, J. G. Wells, and N. A. Stockbrine. 2003. *Escherichia, Shigella, and Salmonella*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Adams, S. 1991. Screening for verotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clinical Lab Science* 4(1):19-20.
11. March, S. B., and S. Ratnam. 1986. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23:869-872.
12. Meng, J., Feng, P., and M.P. Doyle. 2001. Pathogenic *Escherichia coli*. In: Downes, F.P., and K. Ito (ed.). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods.*, 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association, Washington. D.C.
13. Hitchins, A. D., P. Feng, W. D. Watkins, S. R. Rippey, and L. A. Chandler. 1995. *Escherichia coli* and the coliform bacteria. p. 4.01-4.29. In *Bacteriological analytical manual*, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.

14. Mortlock, S. 1994. Recovery of *Escherichia coli* O157:H7 from mixed suspensions: evaluation and comparison of pre-coated immunomagnetic beads and direct plating. *Brit. J. Biomed. Sci.* 51: 207-214.
15. Ogden, I.D., Hepburn, N.F., and M. MacRae. 2001. The optimization of isolation media used in immunomagnetic separation methods for the detection of *Escherichia coli* O157 from foods. *J. Appl. Microbiol.* 91: 373-379.
16. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. *In: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9.* Urban & Fischer, Munich, Germany.

## **VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE**

### **BD MacConkey Agar with Sorbitol**

Best.-Nr. 254455                      Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

## **WEITERE INFORMATIONEN**

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



### **Becton Dickinson GmbH**

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50      Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception\_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

Dynabeads and Dynal are trademarks of Dynal

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD logo, BBL and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company

© 2013 BD