



BD MacConkey Agar With Sorbitol

PRZEZNACZENIE

BD MacConkey Agar with Sorbitol, zwane również Sorbitol MacConkey Agar (SMAC), jest częściowo selektywnym podłożem różnicującym do izolowania *E. coli* O157:H7 z próbek klinicznych.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Rolę *E. coli* (EHEC) O157:H7, bakterii powodującej krwawienia jelitowe, jako patogenu człowieka po raz pierwszy odkryto w roku 1982.¹ Do dnia dzisiejszego serotyp O157:H7 jest najczęstszym – dużo częstszym niż wszelkie inne – serotypem odpowiedzialnym za tę chorobę, chociaż niekiedy za tego typu lub podobne zakażenia odpowiedzialne mogą być inne serotypy *E. coli*.²

Ze względu na wytwarzanie toksyn nie do odróżnienia od toksyny shiga (Shiga-like Toxins – SLT: werocytotoksyna), wiadomo, że serotyp O157:H7 *E. coli* odgrywa rolę w przypadkach biegunki, ciężkiego krwotocznego zapalenia jelit i w zespole hemolityczno-mocznicowym (Hemolytic Uremic Syndrome - HUS). Epidemiologicznie zespół ten jest zakażeniem przenoszonym przez pokarm, często związanym ze spożyciem niepoddanej dostatecznej obróbce cieplnej wołowiny lub innego pokarmu pochodzenia zwierzęcego, takiego jak surowe mleko.²⁻⁵

Szczepy O157 różnią się zwykle od prawidłowych szczepów *E. coli* tym, że wyniki testów na obecność sorbitolu i beta-glukuronidazy (β -gluc) są w ich wypadku ujemne. Dzięki temu można odróżnić je od typowych szczepów *E. coli* metodami biochemicznymi przez dołączenie do podłoża bakteriologicznego odpowiednich substratów. Jednym z pierwszych podłoży zastosowanych do izolowania tych drobnoustrojów był Sorbitol-MacConkey Agar (czyli SMAC).^{6,7} MacConkey Agar with sorbitol (agar MacConkey z sorbitolem) stanowi modyfikację formuły podanej przez Rappaporta i Heniga do izolowania enteropatogennych serotypów *Escherichia coli* O111 i O55.⁸ Opisano użyteczność tego podłoża do wykrywania *E. coli* O157:H7, patogenu człowieka związanego z krwotocznym zapaleniem jelit.⁹⁻¹¹ W pożywce tej zamiast laktozy wykorzystuje się D-sorbitol w celu izolowania i różnicowania enteropatogennych, zwykle sorbitoloujemnych, serotypów *E. coli*. Można je stosować do testów klinicznych i do badania żywności.⁸⁻¹³

W **BD MacConkey Agar with Sorbitol** źródłem azotu są peptony. D-sorbitol jest ulegającym fermentacji węglowodanem. Większość powodujących krwotoki szczepów *E. coli* nie będzie wywoływała fermentacji D-sorbitolu i na MacConkey Sorbitol Agar będzie widoczna jako bezbarwne kolonie. Sole żółciowe i fiolet krystaliczny są wybiórczymi środkami, hamującymi wzrost drobnoustrojów Gram-dodatnich. Czerwień obojętna jest wskaźnikiem pH.

ODCZYNNIKI

BD MacConkey with Sorbitol

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Peptony	20,0 g
D-sorbitol	10,0
Sole żółciowe	1,5
Chlorek sodu	5,0
Czerwień obojętna	0,03
Fiolet krystaliczny	0,001
Agar	15,0

pH 7,1 $\pm$ 0,2

*Skorygowany i(lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami kryteriów działania.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych. 

Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne przejawy pogorszenia jakości.

Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**.

WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

Dostarczone płytki należy przechowywać w ciemnym pomieszczeniu, w temperaturze od 2 do 8°C, w oryginalnych opakowaniach w formie rękawa, aż do momentu użycia. Nie zamrażać i nie przegrzewać. Płytki należy wykorzystać do posiewu bakterii przed upływem daty ważności (zobacz etykietę na opakowaniu) i inkubować zgodnie z zalecanymi czasami inkubacji.

Płytki z otwartego opakowania zawierającego 10 płytek należy zużyć w ciągu tygodnia, pod warunkiem przechowywania w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8°C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Podłoża inokuluje się reprezentatywnymi próbkami wymienionych szczepów (szczegółowe informacje – zobacz dokument **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**).

Inkubować przez 18-24 h w temperaturze od 35 do 37°C.

Szczepy bakteryjne	Wzrost
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 NCTC 12900* (sorbitoloujemny)	Wzrost od dobrego do bardzo dobrego; kolonie bezbarwne lub beżowe
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (sorbitolododatni)	Wzrost; kolonie o zabarwieniu jasno- lub ciemnoróżowym
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu

* NCTC 12900 jest szczepem zalecanym do rutynowej kontroli jakości, gdyż nie wytwarza toksyn. Szczep jest dostępny w National Collection of Type Cultures, Londyn, Wielka Brytania. Informacje na ten temat są dostępne pod adresem www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefsets.htm.

PROCEDURA

Dostarczane materiały

BD MacConkey Agar With Sorbitol (90 mm płytki **Stacker**). Sprawdzane pod względem obecności drobnoustrojów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Typy próbek

Pożywkę tę stosuje się do izolowania *Escherichia coli* O157:H7 (i innych serotypów sorbitoloujemnych) z próbek kału od pacjentów z podejrzeniem zakażenia tym drobnoustrojem, oraz z próbek pokarmu, próbek weterynaryjnych i pobranych ze środowiska (zob. także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI I OGRANICZENIA PROCEDURY**).

Procedura badania

Próbki należy posiać bezpośrednio na pożywkę lub zastosować wzbogacenie wstępne, takie jak wybiórczy, zmodyfikowany Tryptic Soy Broth (bulion tryptozowo-sojowy), lub oddzielenie immunomagnetyczne (IMS) za pomocą **Dynabeads**, zgodnie z instrukcjami producenta, i wykonać hodowlę pochodną na **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. Techniki wzbogacania wstępnego są szczególnie pomocne, jeżeli próbki są zanieczyszczone florą prawidłową.^{14,15} W celu wyizolowania *E. coli* O157:H7 bezpośrednio z próbek kału, próbkę kału lub materiał z wymazu z odbytnicy należy posiać na niewielkim obszarze jednego kwadrantu i wykonać hodowlę pasmową. Umożliwia to powstanie odrębnych kolonii. Zaleca się również wykonanie posiewu na pożywce o większym stopniu selektywności, takiej jak np. **BD CHROMagar O157**. Hodowlę należy inkubować w warunkach tlenowych w temperaturze 36 ± 2°C przez 18 – 24 godzin.

Wyniki

Drobnoustroje powodujące fermentację sorbitolu wytwarzają na **BD MacConkey Agar with Sorbitol** jasnoróżowe kolonie. Drobnoustroje niepowodujące fermentacji sorbitolu, takie jak *E. coli* O157:H7, są bezbarwne. Wstępną identyfikację kolonii na podstawie zabarwienia jako *E. coli* O157:H7 należy potwierdzić za pomocą metod serologicznych lub molekularnych, służących do wykrywania serotypu i(lub) toksyn.^{6,9,12,13}

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY

BD MacConkey with Sorbitol jest standardowym podłożem do izolowania sorbitoloujemnych serotypów *E. coli*, zwłaszcza O157:H7, z próbek materiału klinicznego i innych rodzajów materiału.^{6-13,16}

Przy długotrwałej inkubacji szczepy *E. coli* O157:H7 mogą powodować fermentację sorbitolu. Zabarwienie kolonii sorbitolododatnich może blaknąć, co utrudnia odróżnienie ich od kolonii sorbitoloujemnych.

Istnieją sorbitoloujemne szczepy o serotypach innych niż O157:H7, które mogą produkować toksyny lub nie, i mogą dawać objawy kliniczne albo ich nie powodować.² **BD MacConkey Agar with Sorbitol** nie umożliwia różnicowania między szczepami *E. coli* O157 produkującymi toksyny a szczepami nieprodukującymi toksyn.

Szczepy innych drobnoustrojów niepowodujących fermentacji sorbitolu (takich jak *Escherichia hermannii*) mogą rosnąć na MacConkey Sorbitol Agar.

Do ostatecznej identyfikacji szczepów *E. coli* O157 wyizolowanych z **BD MacConkey Agar with Sorbitol** lub innych pożywek izolacyjnych odpowiednich dla tego drobnoustroju niezbędne są testy potwierdzające, przeprowadzone np. metodami serologicznymi lub molekularnymi.^{2,6,9,12,13}

Jedno podłoże rzadko wystarcza do wykrycia wszystkich potencjalnych patogenów, które mogą mieć znaczenie. Zaleca się zatem przeprowadzenie hodowli odpowiednich próbek także na pożywce **BD CHROMagar O157**.

PIŚMIENNICTWO

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. Anglick. 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* 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. Ratnam. 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 0111 and 055). *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*, 4th 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.

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

BD MacConkey Agar with Sorbitol

Nr kat. 254455

Ready-to-use Plated Media (Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, po 20 sztuk

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy BD.



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