



BD MacConkey Agar with Sorbitol

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

BD MacConkey Agar with Sorbitol, também conhecido como Sorbitol MacConkey Agar (SMAC), é um meio parcialmente selectivo para diferenciação utilizado no isolamento de *E. coli* O157:H7 proveniente de amostras clínicas.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

A *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 foi reconhecida pela primeira vez como um agente patogénico para o homem em 1982.¹ Até aos dias actuais, o serótipo O157:H7 é de longe o serótipo mais frequentemente responsável por esta doença, embora ocasionalmente possam estar envolvidos outros serótipos de *E. coli* neste tipo de infecção ou noutros tipos semelhantes.²

Devido à produção de toxinas semelhantes a Shiga (SLT, verocitotoxina), o serótipo O157:H7 da *E. coli* é conhecido como estando envolvido em casos de diarreia, colite enterohemorrágica grave e de Síndrome Hemolítico-Urémico (HUS). Em termos epidemiológicos, o síndrome consiste numa doença transmitida por alimentos, muitas vezes associada ao consumo de carne de vaca mal passada ou de outros alimentos derivados de fontes animais como, por exemplo, leite cru.²⁻⁵

Normalmente, as estirpes O157 são diferentes das estirpes normais de *E. coli* uma vez que são negativas ao sorbitol e à beta-glucuronidase (β -gluc). Por essa razão, é possível diferenciá-las das *E. coli* normais por métodos bioquímicos quando os substratos apropriados são incluídos em meios bacteriológicos. O agar de sorbitol MacConkey (= SMAC) foi um dos meios utilizados pela primeira vez para isolar estes organismos.^{6,7}

O MacConkey Agar with Sorbitol é uma modificação da fórmula elaborada por Rappaport e Henig para o isolamento dos serótipos O11 e O55 da *Escherichia coli* enteropatogénica.⁸ A utilidade deste meio na detecção de *E. coli* O157:H7, um agente patogénico para o homem associado à colite hemorrágica, foi descrita.⁹⁻¹¹ Este meio utiliza D-sorbitol em vez de lactose para o isolamento e diferenciação dos serótipos de *E. coli* enteropatogénica que têm tendência para serem negativos ao sorbitol. Pode ser utilizado para testes clínicos e de alimentos.⁸⁻¹³

No **BD MacConkey Agar with Sorbitol**, as peptonas são fontes de nitrogénio. O D-sorbitol é um hidrato de carbono fermentável. A maioria das estirpes de *E. coli* hemorrágica não irão fermentar o D-sorbitol e aparecem como colónias incolores no agar de sorbitol MacConkey. Os sais biliares e o cristal violeta são agentes selectivos que inibem o desenvolvimento de organismos gram-positivos. O vermelho neutro é um indicador de pH.

REAGENTES

BD MacConkey Agar with Sorbitol

Fórmula* Aproximada por Litro de Água Purificada

Peptonas	20,0 g
D-sorbitol	10,0
Sais biliares	1,5
Cloreto de sódio	5,0
Vermelho neutro	0,03
Cristal violeta	0,001
Agar	15,0

pH 7,1 \pm 0,2

*Ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios do desempenho.

PRECAUÇÕES

IVD . Apenas para uso profissional. ☒

Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até ao prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8°C.

CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular amostras representativas com as seguintes estirpes (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incubar durante 18 a 24 h, a uma temperatura entre 35 e 37°C.

Estirpes	Resultados de Crescimento
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 NCTC 12900* (negativa ao sorbitol)	Crescimento bom a excelente; colónias incolores ou beges
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (positiva ao sorbitol)	Crescimento; colónias cor-de-rosa a vermelho claro
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibição parcial a completa

* Recomenda-se a NCTC 12900 para o controlo de qualidade de rotina uma vez que não produz toxinas. A estirpe está disponível no National Collection of Type Cultures, Londres, Reino Unido. Para mais informações consultar www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefsets.htm.

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD MacConkey Agar with Sorbitol (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlado.

Materiais não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Tipos de amostra

Este meio é utilizado para o isolamento de *Escherichia coli* O157:H7 (e de outros serótipos negativos ao sorbitol) provenientes de amostras de fezes de doentes com suspeita de infecção por este agente e para amostras de alimentos, veterinárias e ambientais (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**).

Procedimento do teste

Colocar as placas de amostras directamente no meio ou utilizar um meio de pré-enriquecimento como, por exemplo, caldo tríptico de soja modificado e selectivo ou de separação imunomagnética (IMS) com **Dynabeads**, de acordo com as instruções do fabricante e efectuar uma repicagem no **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. As técnicas de pré-enriquecimento são particularmente úteis se as amostras estiverem contaminadas com flora normal.^{14,15} Para isolar a *E. coli* O157:H7 directamente a partir de amostras fecais, inocular as amostras fecais ou zaragatoas rectais numa área pequena de um quadrante e espalhar para obter o isolamento. Este processo irá permitir o desenvolvimento discreto de colónias. Recomenda-se ainda a inoculação de um meio mais selectivo como, por exemplo, o **BD CHROMagar O157**. Incubar numa atmosfera aeróbia, a 36 ± 2°C, durante 18 a 24 h.

Resultados

Os organismos fermentadores de sorbitol produzem colónias cor-de-rosa no **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. Os organismos que não fermentam o sorbitol, como é o caso da *E. coli* O157:H7, são incolores. As colónias presumivelmente identificadas através da sua cor devem ser confirmadas como *E. coli* O157:H7 utilizando métodos serológicos ou moleculares para a detecção do serótipo e/ou das toxinas.^{6,9,12,13}

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O **BD MacConkey Agar with Sorbitol** é um meio padrão utilizado para o isolamento de serótipos de *E. coli* negativos ao sorbitol em especial o O157:H7, provenientes de amostras clínicas e de outros materiais.^{6-13,16}

Após um período de incubação longo, as estirpes de *E. coli* O157:H7 podem fermentar o sorbitol.

A cor das colónias positivas ao sorbitol pode ficar mais clara, dificultando a sua distinção em relação às colónias negativas ao sorbitol.

Existem estirpes negativas ao sorbitol de outros serótipos além do O157:H7 que podem ou não produzir toxinas e sintomas clínicos.² O **BD MacConkey Agar with Sorbitol** não faz distinção entre as estirpes de *E. coli* O157 produtoras de toxinas e as não produtoras.

As estirpes de outros organismos que não fermentam o sorbitol (como a *Escherichia hermannii*) podem desenvolver-se no agar de sorbitol MacConkey.

Os testes de confirmação como, por exemplo, métodos serológicos ou moleculares para a detecção do serótipo e/ou das toxinas são considerados obrigatórios para a identificação definitiva de estirpes de *E. coli* O157 isoladas a partir do **BD MacConkey Agar with Sorbitol** ou de outros meios de isolamento para este organismo.^{2,6,9,12,13}

Raramente um único meio é adequado para detectar todos os agentes patogénicos potencialmente envolvidos. Por essa razão, é recomendado o cultivo de amostras apropriadas em **BD CHROMagar O157**.

Bibliografia

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 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.

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD MacConkey Agar with Sorbitol

No. de cat. 254455 Meios em placas prontos a usar, 20 placas

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter informações adicionais, contacte o representante local da 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