



## BD MacConkey Agar with Sorbitol

### KULLANIM AMACI

Sorbitol MacConkey Agar (SMAC) olarak da bilinen **BD MacConkey Agar with Sorbitol** (Sorbitol İçeren MacConkey Agar), klinik örneklerden *E. coli* O157:H7'nin izolasyonu için kısmen seçici diferansiyel bir besiyeridir.

### PROSEDÜR İLKELERİ VE AÇIKLAMASI

Mikrobiyolojik yöntem.

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) O157:H7, ilk defa 1982'de insan patojeni olarak tanımlanmıştır.<sup>1</sup> Zaman zaman diğer *E. coli* serotipleri bu veya benzer tip enfeksiyonlara neden olsa dahi, bugüne kadar O157:H7 serotipi bu hastalığa en sık neden olan serotiptir.<sup>2</sup>

Shiga-benzeri Toksinlerin (SLT, verositotoksin) üretimi sebebiyle, *E. coli* O157:H7 serotipinin, ishal, şiddetli enterohemorajik kolit ve Hemolitik Üremik Sendrom (HUS) vakalarından sorumlu olduğu bilinmektedir. Epidemiyolojik olarak, sendrom genellikle az pişmiş sığır eti veya çiğ süt gibi diğer hayvan kaynaklı gıdaların tüketimi ile ilişkili, gıda kaynaklı bir hastalıktır.<sup>2-5</sup>

Genellikle O157 suşları, normal *E. coli* suşlarından sorbitol ve beta-glukuronidaz (β-gluk) negatif olması ile farklılık gösterir. Bu sebeple, bakteriyolojik besiyerine uygun substratlar eklendiğinde *E. coli*'den biyokimyasal yolla ayrıştırılabilirler. Sorbitol-MacConkey Agar (= SMAC) bu organizmaları izole etmek için kullanılan ilk besiyerlerinden biridir.<sup>6,7</sup>

Sorbitol içeren MacConkey Agar, enteropatojenik *Escherichia coli* serotipleri O11 ve O55'in izolasyonu için Rappaport ve Henig tarafından verilen formülün bir modifikasyonudur.<sup>8</sup> Bu besiyerinin, hemorajik kolit ile ilişkili bir insan patojeni olan *E. coli* O157:H7'yi saptamada kullanılabilirliği tanımlanmıştır.<sup>9-11</sup> Bu besiyeri, sorbitol negatif olma eğiliminde olan enteropatojenik *E. coli* serotiplerini izole etme ve ayırtırmada laktöz yerine D-sorbitol kullanır. Klinik olarak veya gıda testi için kullanılabilir.<sup>8-13</sup>

**BD MacConkey Agar with Sorbitol**'de peptonlar azot kaynaklarıdır. D-Sorbitol fermente edilebilir bir karbonhidrattır. Çoğu hemorajik *E. coli* suşu D-sorbitol'ü fermente etmeyecektir ve MacConkey Sorbitol Agar'da renksiz koloniler olarak görülecektir. Safra tuzları ve kristal viyole gram-pozitif organizmaların gelişimini inhibe eden seçici ajanlardır. Nötral kırmızı bir pH indikatördür.

### REAKTİFLER

#### BD MacConkey Agar with Sorbitol

1 Litre Saf Su için Yaklaşık Formül\*

|                |        |
|----------------|--------|
| Peptonlar      | 20,0 g |
| D-Sorbitol     | 10,0   |
| Safra Tuzları  | 1,5    |
| Sodyum Klorür  | 5,0    |
| Nötral Kırmızı | 0,03   |
| Kristal Viyole | 0,001  |
| Agar           | 15,0   |

pH 7,1 ± 0,2

\*Performans kriterlerini karşılamak üzere gereken şekilde ayarlanmış ve/veya desteklenmiştir.

### ÖNLEMLER

**IVD**. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. ⓧ

Mikrobiyal kontaminasyon belirtileri, renk değişimi, kuruma, çatlama veya diğer bozulma belirtileri görülen plakları kullanmayın.

Aseptik kullanım prosedürleri, biyolojik tehlikeler ve kullanılmış ürünün atılmasıyla ilgili olarak

**GENEL KULLANIM TALİMATLARI**'na bakın.

## SAKLAMA VE RAF ÖMRÜ

Alındıktan sonra plakları kullanana kadar orijinal kaplı ambalajında karanlıkta 2 ila 8 °C'de saklayın. Dondurmaktan ve aşırı ısıtmaktan kaçının. Plaklar son kullanma tarihine kadar (ambalaj etiketine bakın) ve önerilen inkübasyon sürelerinde inkübe edilebilir. 10 plaklık açılmış yığınardan alınan plaklar temiz bir alanda, 2 ila 8 °C'de saklandığında bir hafta kullanılabilir.

## KULLANICI TARAFINDAN KALİTE KONTROLÜ

Temsili örnekleri aşağıdaki suşlar ile inoküle edin (detaylar için, bkz. **GENEL KULLANIM TALİMATLARI** belgesi). 35 ila 37 °C'de 18 ila 24 saat inkübe edin.

| Suşlar                                                         | Gelişim Sonuçları                                    |
|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> O157:H7 NCTC 12900* (sorbitol negatif) | İyi ila mükemmel gelişim; koloniler renksiz veya bej |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (sorbitol pozitif)          | Gelişim; gül rengi ila pembe koloniler               |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212                        | Kısmi ila tam inhibisyon                             |

\* NCTC 12900, toksin üretmediğinden rutin kalite kontrolü için önerilir. Suş, Ulusal Tip Kültürleri Koleksiyonu, Londra, İngiltere'den temin edilebilir. Bilgi için, [www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefssets.htm](http://www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefssets.htm) adresine bakın.

## PROSEDÜR

### Sağlanan Malzemeler

**BD MacConkey Agar With Sorbitol** (90 mm **Stacker** plaklar). Mikrobiyolojik açıdan kontrol edilmiştir.

### Sağlanmayan Malzemeler

Yardımcı kültür ortamı, reaktifler ve gerekli laboratuvar ekipmanı.

### Örnek Türleri

Bu besiyeri, *Escherichia coli* O157:H7 (ve diğer sorbitol negatif serotipler) ile enfekte olduğundan şüphelenilen hastaların dışkı örneklerinden ve gıdasal, hayvansal ve çevresel kaynaklardan bu ajanın izolasyonu için kullanılır (aynı zamanda bkz. **PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR**).

### Test Prosedürü

Numuneleri doğrudan besiyeri plağına uygulayın veya seçici modifiye edilmiş Tryptic Soy Broth gibi ön zenginleştirme veya üretici talimatlarını takip ederek **Dynabeads** ile immünomanyetik ayırma (IMS) kullanın ve **BD MacConkey Agar with Sorbitol**'de alt kültür hazırlayın. Örnekler veya numuneler normal flora ile kontamine olmuşsa önceden zenginleştirme teknikleri özellikle yardımcı olur.<sup>14,15</sup> *E. coli* O157:H7'yi doğrudan dışkı örneklerinden izole etmek için, dışkı örneklerini veya rektal swab'ları bir çeyrek dairenin küçük bir bölgesine inoküle edin ve izolasyon için sürme yöntemi ile ekim yapın. Bu, farklı kolonilerin gelişmesine izin verecektir. Aynı zamanda daha yüksek seçicilik derecesine sahip bir besiyerinin (örn., **BD CHROMagar O157**) inoküle edilmesi de önerilir. Aerobik atmosferde 36 +/- 2 °C'de 18 ila 24 saat inkübe edin.

### Sonuçlar

Sorbitolü fermente eden organizmalar **BD MacConkey Agar with Sorbitol** üzerinde pembe koloniler oluştururlar. *E. coli* O157:H7 gibi, sorbitolü fermente etmeyen organizmalar renksizdir. Koloni rengi ile tahminleyici tanısı yapılan koloniler, serotip ve/veya toksinlerin saptanması için serolojik veya moleküler yöntemler kullanılarak *E. coli* O157:H7 olarak doğrulanmalıdır.<sup>6,9,12,13</sup>

## PERFORMANS ÖZELLİKLERİ VE PROSEDÜRÜN KISITLI OLDUĞU ALANLAR

**BD MacConkey Agar with Sorbitol**, sorbitol negatif *E. coli* serotiplerinin, özellikle O157:H7'nin klinik örnekler ve diğer materyallerden izolasyonu için standart bir besiyeridir.<sup>6-13,16</sup>

Uzun süre inkübasyon üzerine, *E. coli* O157:H7 sorbitolü fermente edebilir.

Sorbitol pozitif kolonilerin rengi solarak bunların sorbitol negatif kolonilerden ayırt edilmesini zorlaştırabilir.

Toksinler ve klinik semptomlar oluşturabilen veya oluşturmayan O157:H7 dışındaki serotiplerin sorbitol negatif suşları mevcuttur.<sup>2</sup> **BD MacConkey Agar with Sorbitol**, *E. coli* O157'nin toksin üreten ve üretmeyen suşlarını ayırıştırır.

Sorbitolü fermente etmeyen diğer organizmaların suşları (*Escherichia hermannii* gibi) MacConkey Sorbitol Agar'da gelişebilir.

**BD MacConkey Agar with Sorbitol** veya bu organizma için diğer izolasyon besiyerlerinden izole edilen *E. coli* O157 suşlarının nihai tanımlanması için serotip ve/veya toksinlerin saptanması için serolojik veya moleküler yöntemler gibi doğrulayıcı testler zorunludur.<sup>2,6,9,12,13</sup> Bulunan bütün potansiyel patojenleri saptamak için tek bir besiyeri nadiren yeterlidir. Bu sebeple, uygun örneklerin aynı zamanda **BD CHROMagar O157**'de kültive edilmesi önerilir.

## REFERANSLAR

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* 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., 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association, Washington. D.C.
13. Hitchens, 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., Lüttken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9. Urban & Fischer, Munich, Germany.

## **AMBALAJ/TİCARİ TAKDİM ŞEKLİ**

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

Kat. No. 254455

Kullanıma Hazır Plak Besiyeri, cpu 20

## **EK BİLGİ**

Daha fazla bilgi için lütfen yerel BD temsilcinizle temasa geçin.



### **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