

BD MacConkey Agar with Sorbitol

USO PREVISTO

BD MacConkey Agar with Sorbitol (agar MacConkey con sorbitolo), noto anche come agar sorbitolo MacConkey (SMAC), è un terreno differenziale parzialmente selettivo per l'isolamento di *E. coli* O157:H7 da campioni clinici, animali, alimentari e ambientali.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

E. coli enteroemorragico (EHEC) O157:H7 è stato riconosciuto come patogeno per l'uomo nel 1982.¹ Ad oggi, O157:H7 è il sierotipo associato più spesso a questa patologia, benché anche altri sierotipi di *E. coli* siano occasionalmente causa di questa o in altre infezioni simili.²

Il sierotipo O157:H7 di *E. coli* determina casi di diarrea, grave enterocolite emorragica e sindrome emolitico-uremica (HUS) a causa della produzione di tossine Shiga-simili (SLT, verocitotossina). Epidemiologicamente, la sindrome si trasmette per via alimentare, spesso in relazione al consumo di carne poco cotta o di altri alimenti di origine animale, come il latte non pastorizzato.²⁻⁵

In genere, i ceppi O157 si differenziano dai normali ceppi di *E. coli* perché sono sorbitolo e beta-glucuronidasi (β -gluc) negativi e quindi possono essere differenziati dai normali *E. coli* con i test biochimici, aggiungendo ai terreni batteriologici gli idonei substrati. L'agar sorbitolo MacConkey (SMAC) è stato uno dei primi terreni utilizzati per isolare questi microrganismi.^{6,7}

L'agar MacConkey con sorbitolo è una modifica della formula proposta da Rappaport e Henig per isolare i sierotipi enteropatogeni 011 e 055 di *Escherichia coli*.⁸ L'efficacia del terreno come base per l'identificazione di *E. coli* O157:H7, un patogeno umano associato a colite emorragica, è stata ampiamente documentata.⁹⁻¹¹ Il terreno utilizza D-sorbitolo invece di lattosio per isolare e differenziare i sierotipi enteropatogeni di *E. coli*, che tendono ad essere sorbitolo negativi, e può essere usato per test su campioni clinici e alimentari.⁸⁻¹³

BD MacConkey Agar with Sorbitol contiene azoto fornito dai peptoni. D-sorbitolo è un carboidrato fermentabile. La maggior parte dei ceppi emorragici di *E. coli* non fermenta il D-sorbitolo e appare sotto forma di colonie incolori su agar sorbitolo MacConkey. Sali biliari e cristalvioletto sono agenti selettivi che inibiscono la crescita di microrganismi Gram-positivi. Il rosso neutro è un indicatore del pH.

REAGENTI

BD MacConkey Agar with Sorbitol

Formula approssimata* per litro di acqua purificata

Peptoni	20,0 g
D-sorbitolo	10,0
Sali biliari	1,5
Cloruro di sodio	5,0
Rosso neutro	0,03
Cristalvioletto	0,001
Agar	15,0

pH 7,1 \pm 0,2

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale.

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni di colore, essiccamento, incrinature o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare a 35 – 37 °C per 18 – 24 h.

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 NCTC 12900* (sorbitolo negativo)	Crescita da buona a eccellente, colonie incolori o beige
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (sorbitolo positivo)	Crescita; colonie da rosate a rosa
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibizione da parziale a completa

* NCTC 12900 è ideale per i normali controlli di qualità perché non produce tossine. Il ceppo può essere richiesto al National Collection of Type Cultures, Londra, Regno Unito. Per ulteriori informazioni, consultare www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefsets.htm

PROCEDURA

Materiali forniti

BD MacConkey Agar With Sorbitol (piastre impilate **Stacker** da 90 mm).
Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

Il terreno viene usato per l'isolamento di *Escherichia coli* O157:H7 (e altri sierotipi sorbitolo negativi) da campioni fecali di soggetti presumibilmente infettati da questo agente, nonché da campioni alimentari, animali e ambientali (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

Procedura del test

Inseminare i campioni direttamente sul terreno o usare una base di prearricchimento come il brodo di soia Trypticase o la separazione immunomagnetica (IMS) con **Dynabeads**, seguendo le istruzioni del fabbricante, e trasferire la subcoltura su **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. Le tecniche di prearricchimento sono particolarmente utili quando i campioni o i prelievi sono contaminati da flora normale.^{14,15} Per isolare *E. coli* O157:H7 direttamente dai campioni di feci, inoculare i tamponi rettali o i campioni fecali su una piccola area di un quadrante e strisciare. Questa tecnica consente di sviluppare colonie ben distinte. È opportuno inoculare anche un terreno con un livello di selettività più elevato, come **BD CHROMagar O157**. Incubare in atmosfere aerobica a 36 ± 2 °C per 18 – 24 h.

Risultati

I microrganismi fermentanti il sorbitolo producono colonie rosa su **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. I microrganismi che non fermentano il sorbitolo, come *E. coli* O157:H7, sono incolori. Le colonie presuntivamente riconosciute in base al colore devono essere identificate definitivamente come *E. coli* O157:H7 applicando le prove sierologiche o molecolari per l'individuazione del sierotipo e/o delle tossine.^{6,9,12,13}

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD MacConkey Agar with Sorbitol è il terreno abitualmente utilizzato per l'isolamento di sierotipi sorbitolo negativi di *E. coli*, in particolare O157:H7, da campioni clinici e da altri materiali.^{6-13,16}

Se si protrae il periodo di incubazione, i ceppi di *E. coli* O157:H7 possono fermentare il sorbitolo. La colorazione delle colonie sorbitolo positive può sbiadirsi, rendendo difficile la differenziazione rispetto alle colonie sorbitolo negative.

Oltre al sierotipo O157:H7, esistono ceppi sorbitolo negativi che potrebbero produrre tossine e dare sintomi clinici.² **BD MacConkey Agar with Sorbitol** non consente di differenziare i ceppi di *E. coli* O157 che producono tossine da quelli che non le producono.

Su agar sorbitolo MacConkey possono crescere ceppi di altri microrganismi che non fermentano il sorbitolo (come *Escherichia hermannii*).

I test di conferma, ad es. le prove sierologiche o molecolari, sono necessari per rilevare il sierotipo e/o le tossine e identificare definitivamente i ceppi O157 di *E. coli* isolati da **BD MacConkey Agar with Sorbitol** o da altri terreni specifici per questo microrganismo.^{2,6,9,12,13} Difficilmente un singolo terreno consente di rilevare tutti i patogeni potenzialmente causa. È quindi opportuno coltivare campioni appropriati anche su **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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD MacConkey Agar with Sorbitol

N. di cat. 254455 Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



BD Diagnostic Systems

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

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

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

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

© 2003 Becton, Dickinson and Company