

## USO PREVISTO

MacConkey II Agar with Sorbitol (agar MacConkey II con sorbitolo) è usato come terreno selettivo e differenziale per la rilevazione di *Escherichia coli* sierotipo O157:H7 associata a colite emorragica.

## SOMMARIO E SPIEGAZIONE

*Escherichia coli* sierotipo O157:H7 è un patogeno umano associato a colite emorragica.<sup>1</sup> A differenza della maggior parte di ceppi di *E. coli*, *E. coli* O157:H7 fermenta il sorbitolo lentamente oppure non lo fermenta affatto. Ciò ha portato a determinare l'efficacia dell'agar MacConkey contenente sorbitolo, anziché lattosio, come terreno differenziale per la rilevazione di *E. coli* sierotipo O157:H7 in colture fecali. I risultati di studi sul campo hanno dimostrato un'intensa crescita di *E. coli* O157:H7 su agar MacConkey con sorbitolo, in coltura quasi pura, sotto forma di colonie incolori non fermentanti il sorbitolo. La maggior parte dei microrganismi della flora fecale fermenta il sorbitolo e appare rosa su questo terreno. L'agar MacConkey con sorbitolo consente pertanto di riconoscere tempestivamente *E. coli* O157:H7 nelle colture fecali.<sup>1</sup>

## PRINCIPI DELLA PROCEDURA

MacConkey II Agar with Sorbitol è una formula modificata dell'agar MacConkey II, che utilizza il sorbitolo anziché il lattosio. È un terreno selettivo e differenziale, seppure a moderata selettività in quanto la concentrazione di sali biliari, che inibisce i microrganismi gram-positivi, è bassa rispetto a quella di altri terreni enterici in piastra. Il terreno include anche cristalvioletto per inibire la crescita dei batteri gram-positivi, soprattutto enterococchi e stafilococchi.

La differenziazione dei microrganismi enterici si ottiene mediante combinazione del sorbitolo con l'indicatore rosso neutro. Vengono prodotte colonie incolori o rosa-rosse, a seconda della capacità dell'isolato di fermentare il carboidrato.

L'agar MacConkey II è formulato anche per ridurre al minimo la sciamatura di *Proteus* spp.

## REAGENTI

### MacConkey II Agar with Sorbitol

Formula approssimata\* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di gelatina.....	17,0	g
Digerito pancreatico di caseina .....	1,5	g
Digerito peptico di tessuto animale .....	1,5	g
D-sorbitolo.....	10,0	g
Sali biliari .....	1,5	g
Cloruro di sodio.....	5,0	g
Rosso neutro.....	0,03	g
Cristalvioletto.....	0,001	g
Agar .....	13,5	g

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

### Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con estrema cautela le provette con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e i virus dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle precauzioni standard.<sup>2-5</sup> Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

**Istruzioni per la conservazione** - Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 – 25 °C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati.

**Deterioramento del prodotto** - Non usare le provette se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento o altri segni di deterioramento.

## RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Per informazioni dettagliate sulle procedure di raccolta e trattamento dei campioni, consultare la documentazione appropriata.<sup>6-8</sup>

## PROCEDURA

**Materiale fornito** - MacConkey II Agar with Sorbitol

**Materiali necessari ma non forniti** - Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie per questa procedura.

**Procedura del test** - Adottare tecniche aseptiche. Preparare il terreno in piastra, ponendo le provette di agar a cilindro (deeps) - con i tappi non completamente avvitati - a bagnomaria in ebollizione finché il terreno non è liquefatto (trasparente). Versare il terreno liquefatto in una piastra di Petri sterile e lasciarlo solidificare prima dell'uso. La superficie dell'agar deve essere omogenea e non eccessivamente umida.

Inoculare il terreno non appena i campioni pervengono in laboratorio. Per eseguire una coltura da un campione su tampone, inoculare il terreno facendo rotolare il tampone su una piccola porzione dell'agar e strisciare la parte restante dell'agar con un'ansa da inoculo sterilizzata per ottenere colonie isolate. Il materiale non posto in coltura direttamente da tamponi può essere strisciato sul terreno con un'ansa da inoculo sterilizzata. La tecnica di striscio su piastra è usata principalmente per ottenere colonie isolate da campioni contenenti flora mista.

Incubare le piastre capovolte (lato agar rivolto verso l'alto), al riparo dalla luce, a  $35 \pm 2$  °C per 18 – 24 h.

### Controllo di qualità a cura dell'utente

1. Verificare che le provette non presentino segni di deterioramento come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Controllare le performance inoculando un campione rappresentativo di piastre con colture pure di microrganismi di controllo stabili che producono reazioni note e attese. Si consigliano i ceppi di test sottoelencati.

CEPPO PER TEST	RISULTATI ATTESI
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 35150	Crescita, colonie incolori (negative per la fermentazione del sorbitolo)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescita, colonie rosa-rosse (positive per la fermentazione del sorbitolo)

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

## RISULTATI

Dopo 18 – 24 h di incubazione, le piastre devono evidenziare colonie isolate nelle aree strisciate e crescita confluyente nelle aree di inoculo rilevante.

I microrganismi fermentanti il sorbitolo sviluppano colonie rosa-rosse, alcune circondate da zone di precipitato biliare, mentre quelli non fermentanti il sorbitolo producono colonie incolori.

Per la conferma dei riscontri, è necessario eseguire colorazione di Gram, test biochimici e procedure sierologiche.

### LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Alcuni test diagnostici possono essere eseguiti con la piastra primaria. Per i test biochimici e le procedure sierologiche, si raccomanda tuttavia una coltura pura. Per ulteriori informazioni, consultare la documentazione appropriata.<sup>7,9</sup>

L'incubazione protratta della coltura può far perdere alle colonie di *E. coli* sierotipo O157:H7 il caratteristico aspetto incolore.

Vi sono altre specie di bacilli gram-negativi anaerobi facoltativi che non fermentano il sorbitolo.

È stato riportato che alcuni ceppi di *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa* sono inibiti su agar MacConkey allorché incubati in atmosfera arricchita di CO<sub>2</sub> (G. Mazura-Reetz, T.R. Neblett, and J.M. Galperin. Abstr. Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979, C179, p. 339).

Un solo terreno è raramente adatto a rilevare tutti i microrganismi potenzialmente significativi in un campione. Gli agenti in terreni selettivi possono inibire alcuni ceppi delle specie desiderate o consentire la crescita di una specie che erano destinati a inibire, soprattutto se la specie è presente in grandi quantità nel campione. Per ottenere maggiori informazioni e garantire il recupero ottimale di potenziali patogeni, i campioni posti in coltura su terreni selettivi devono essere posti in coltura anche su terreni non selettivi.

### PERFORMANCE

In un laboratorio di igiene, è stato condotto uno studio che ha comportato la rilevazione di *Escherichia coli* O157:H7 in colture fecali mediante SMAC (MacConkey Agar with Sorbitol) come terreno di isolamento primario comparato ad agar MacConkey. Sono stati complessivamente testati 1.043 campioni di feci diarroiche, 99 dei quali raccolti da pazienti con diarrea sanguinolenta. Il terreno SMAC ha prodotto una sensibilità del 100%, rilevando tutte e 18 le feci positive *E. coli* O157:H7.<sup>1</sup> In una valutazione separata di campioni fecali seminati e non seminati, il terreno SMAC ha inoltre raggiunto una sensibilità del 100% (14/14), una specificità dell'85% (204/240) e un'accuratezza dell'86% (218/254).

### DISPONIBILITÀ

#### N. di cat. Descrizione

297684 **BBL** MacConkey II Agar with Sorbitol, confezione da 10 provette di misura A (provette da dispensa)

### BIBLIOGRAFIA

1. 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.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
3. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol* 17:53-80.
4. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
5. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.*
6. Isenberg, H.D., F.D. Schoenknecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating ed., S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p. 30-63. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Tenover, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: Introduction and identification, p. 442-458. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Tenover, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.



Manufacturer  
 Producent  
 Fabrikant  
 Valmistaja  
 Fabricant  
 Hersteller  
 Κατασκευαστής  
 Ditta produttrice  
 Fabrikant  
 Fabricante  
 Fabricante  
 Tillverkare



Use by  
 Anvendes før  
 Houdbaar tot  
 Viimeinkäyttöpäivä  
 A utiliser avant  
 Verwendbar bis  
 Ημερομηνία λήξης  
 Usare entro  
 Brukes før  
 Utilizar em  
 Usar antes de  
 Använd före

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)  
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned)  
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)  
 VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä)  
 ÁÁÁÁ-MM-JJ / ÁÁÁÁ-MM (MM = fin du mois)  
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)  
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)  
 ÁÁÁÁ-MM-GG / ÁÁÁÁ-MM (MM = fine mese)  
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden)  
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = fim do mês)  
 aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes)  
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden)



Catalog number  
 Katalognummer  
 Catalogusnummer  
 Tuotenumero  
 Numéro catalogue  
 Bestellnummer  
 Αριθμός καταλόγου  
 Numero di catalogo  
 Katalognummer  
 Número do catálogo  
 Número de catálogo  
 Katalognummer



Authorized Representative in the  
 European Community  
 Autoriseret repræsentant i EU  
 Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie  
 Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä  
 Représentant agréé pour la C.E.E.  
 Autorisierte EG-Vertretung  
 Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην  
 Ευρωπαϊκή Κοινότητα  
 Rappresentante autorizzato nella Comunità  
 europea  
 Autorisert representant i EU  
 Representante autorizado na União Europeia  
 Representante autorizado en la Comunidad  
 Europea  
 Auktoriserad representant i EU



In Vitro Diagnostic Medical Device  
 In vitro diagnostisk medicinsk anordning  
 Medisch hulpmiddel voor in vitro  
 diagnose  
 Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte  
 Dispositif médical de diagnostic in vitro  
 Medizinisches In-vitro-Diagnostikum  
 In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή  
 Dispositivo medico diagnostico in vitro.  
 In vitro diagnostisk medisinsk utstyr  
 Dispositivo médico para diagnóstico  
 in vitro  
 Dispositivo médico de diagnóstico  
 in vitro  
 Medicinsk anordning för in  
 vitro-diagnostik



Temperature limitation  
 Temperaturbegrensning  
 Temperatuurlimiet  
 Lämpötilarajitus  
 Température limite  
 Zulässiger Temperaturenbereich  
 Οριο θερμοκρασίας  
 Temperatura limite  
 Temperaturbegrensning  
 Limitação da temperatura  
 Limitación de temperatura  
 Temperaturbegrensning



Batch Code (Lot)  
 Batch kode (Lot)  
 Chargennummer (lot)  
 Eräkoodi (LOT)  
 Code de lot (Lot)  
 Chargencode (Chargenbezeichnung)  
 Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα)  
 Codice del lotto (partita)  
 Batch-kode (Serie)  
 Código do lote (Lote)  
 Código de lote (Lote)  
 Satskod (parti)



Consult Instructions for Use  
 Læs brugsanvisningen  
 Raadpleeg gebruiksaanwijzing  
 Tarkista käyttöohjeista  
 Consulter la notice d'emploi  
 Gebrauchsanweisung beachten  
 Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης  
 Consultare le istruzioni per l'uso  
 Se i bruksanvisningen  
 Consulte as instruções de utilização  
 Consultar las instrucciones de uso  
 Se bruksanvisningen



Becton, Dickinson and Company  
 7 Loveton Circle  
 Sparks, MD 21152 USA  
 800-638-8663  
 www.bd.com/ds



Benex Limited  
 Rineanna House  
 Shannon Free Zone  
 Shannon, County Clare, Ireland