

BD MacConkey Agar with Sorbitol

ÚČEL POUŽITÍ

Médium **BD MacConkey Agar with Sorbitol** rovněž známý jako sorbitolový MacConkeyho agar (SMAC), je částečně selektivní rozlišovací médium pro izolaci *E. coli* O157:H7 z klinických vzorků.

ZÁSADY A VYSVĚTLENÍ POSTUPU

Mikrobiologická metoda.

Enterohemoragická *E. coli* (EHEC) O157:H7 byla poprvé rozpoznána jako lidský patogen v roce 1982.¹ Do dnešní doby je serotyp O157:H7 nejčastějším serotypem, který je odpovědný za toto onemocnění, ačkoli příležitostně mohou být v této nebo podobné infekci zahrnuty i další serotypy *E. coli*.²

Kvůli produkci toxinů podobným typu Shiga (SLT, verocytotoxin) je serotyp O157:H7 kmene *E. coli* známou příčinou případů průjmu, vážné enterohemoragické kolitidy a hemolytického uremického syndromu (HUS). Z epidemiologického hlediska je syndrom nemocí přenášenou jídlem a je často spojován s konzumací nedovařeného hovězího masa nebo jiného jídla pocházejícího ze zvířecích zdrojů, například nezpracovaného mléka.²⁻⁵

Obvykle se kmeny O157:H7 liší od normálních kmenů *E. coli* tím, že jsou negativní na sorbitol a beta-glukuronidázu (β -gluc). Z toho důvodu je lze rozlišit od normálních kmenů *E. coli* pomocí biochemických testů, pokud budou součástí bakteriologických médií odpovídající substráty. Sorbitolový MacConkeyho agar (= SMAC) byl jedním z médií, které byly poprvé použity pro izolaci těchto organismů.^{6,7}

MacConkeyho agar se sorbitolem je modifikací složení, které navrhli Rappaport a Henig pro izolaci enteropatogenních *Escherichia coli* serotypů O111 a O55.⁸ Byla popsána použitelnost tohoto média při detekci *E. coli* O157:H7, lidského patogenu spojeného s hemoragickou kolitidou.⁹⁻¹¹ Toto médium obsahuje D-sorbitol (namísto laktózy) pro izolaci a rozlišení enteropatogenních serotypů *E. coli*, které mají tendenci k negativitě na sorbitol. Toto médium je možné použít pro testování klinických a potravinových vzorků.⁸⁻¹³

V agaru **BD MacConkey Agar with Sorbitol** jsou peptony zdrojem dusíku. D-sorbitol je fermentovatelný sacharid. Většina hemoragických kmenů *E. coli* nebude fermentovat D-sorbitol a na MacConkeyho agaru se sorbitolem mají vzhled bezbarvých kolonií. Žlučové soli a krystalová violet jsou selektivní látky, které inhibují růst gram-pozitivních organismů. Neutrální červeň je indikátorem pH.

ČINIDLA

BD MacConkey Agar with Sorbitol

Přibližné složení* na litr čištěné vody

Peptony	20,0 g
D-sorbitol	10,0
Žlučové soli	1,5
Chlorid sodný	5,0
Neutrální červeň	0,03
Krystalová violet	0,001
Agar	15,0

pH 7,1 $\pm$ 0,2

*Upraveno anebo doplněno dle požadavků tak, aby byla splněna kritéria účinnosti.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

IVD . Pouze k odbornému použití. ☒

Pokud misky vykazují známky mikrobiální kontaminace, změny zabarvení, vysušení, popraskání nebo jiné známky poškození, nepoužívejte je.

Pokyny pro aseptickou manipulaci, informace týkající se biologického nebezpečí a pokyny pro likvidaci použitého produktu naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**.

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST

Po převzetí až do doby těsně před použitím skladujte misky v originálním pouzdru, v temnu a při teplotě 2 až 8 °C. Chraňte před mrazem a přehřátím. Misky lze inokulovat až do data expirace (viz štítek na obalu) a inkubovat po doporučenou dobu inkubace.

Misky z otevřených sad po 10 kusech lze použít po dobu jednoho týdne, pokud jsou uloženy v čistém prostředí při teplotě 2 až 8 °C.

KONTROLA KVALITY UŽIVATELEM

Inokulujte reprezentativní vzorky následujícími kmeny (podrobné informace naleznete v dokumentu **VŠEOBECNÉ POKYNY K POUŽITÍ**). Inkubujte po dobu 18 až 24 hodin při teplotě 35 až 37 °C.

Kmeny	Výsledky růstu
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 NCTC 12900* (sorbitol negativní)	Růst dobrý až výborný; kolonie bezbarvé až béžové.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (sorbitol pozitivní)	Růst; růžové až světle růžové kolonie.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Částečná až úplná inhibice.

* Pro běžnou kontrolu kvality doporučujeme použít kmen NCTC 12900, jelikož neprodukuje toxiny. Kmen můžete získat z Národní databáze typových kultur (National Collection of Type Cultures), Londýn, Velká Británie. Příslušné informace naleznete na webové stránce www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefs.htm.

POSTUP

Dodaný materiál

BD MacConkey Agar With Sorbitol (90mm destičky **Stacker**). Mikrobiologicky kontrolováno.

Materiál, který není součástí dodávky

Pomocná kultivační média, činidla a laboratorní vybavení dle potřeby.

Typy vzorků

Toto médium se používá k izolaci kmene *Escherichia coli* O157:H7 (a dalších sorbitol negativních serotypů) ze vzorků stolice od pacientů s podezřením na infekci tímto agens z jídla, u veterinárních a vnějších zdrojů (viz také část **SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU**).

Provedení testu

Inokulujte vzorky přímo na misky s médiem nebo použijte předběžné namnožení bakterií, například selektivní modifikovanou sójovou živnou půdu Tryptic (TBS) nebo imunomagnetickou separaci (IMS) s kuličkami **Dynabeads**

podle pokynů výrobce a subkultivujte na agar **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. Techniky předběžného namnožení jsou zvláště užitečné, pokud jsou vzorky kontaminované normální flórou.^{14,15} Pro přímou izolaci *E. coli* O157:H7 ze vzorků stolice naočkujte vzorky stolice nebo rektální stěry na malou oblast v jedné části misky a rozetřete. Tím umožníte růst drobných kolonií. Doporučujeme zároveň naočkovat médium s vyšším stupněm selektivity, např. agar **BD CHROMagar O157**. Inkubujte po dobu 18 až 24 hodin v aerobním prostředí při teplotě 36 ± 2 °C.

Výsledek

Na agaru **BD MacConkey Agar with Sorbitol** tvoří organismy fermentující sorbitol růžové kolonie. Organismy nefermentující sorbitol, jako např. *E. coli* O157:H7, jsou bezbarvé. Kolonie, jejichž pravděpodobná identifikace proběhla na základě jejich zbarvení, je nutno potvrdit jako

kmen *E. coli* O157:H7 pomocí sérologických nebo molekulárních metod pro detekci serotypu a/nebo toxinů.^{6,9,12,13}

SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI A OMEZENÍ POSTUPU

BD MacConkey Agar with Sorbitol (MacConkeyho agar BD se sorbitolem) je standardní médium pro izolaci sorbitol negativních serotypů *E. coli*, zvláště O157:H7, z klinických vzorků a dalších materiálů.^{6-13,16}

Po prodloužené inkubaci mohou kmeny *E. coli* O157:H7 fermentovat sorbitol.

Barva sorbitol pozitivních kolonií může vymizet, což ztěžuje jejich odlišení od sorbitol negativních kolonií.

Existují sorbitol negativní kmeny jiných serotypů než je O157:H7, které mohou nebo nemusí produkovat toxiny a způsobovat klinické symptomy.² **BD MacConkey Agar with Sorbitol** nerozlišuje mezi kmeny *E. coli* O157, které produkují nebo neprodukují toxiny.

Kmeny jiných organismů, které nefermentují sorbitol (jako např. *Escherichia hermannii*) mohou růst na MacConkeyho agaru se sorbitolem.

Pro konečnou identifikaci kmenů *E. coli* O157 izolovaných z agaru **BD MacConkey Agar with Sorbitol** nebo jiného média k izolaci tohoto organismu je nutné provést ověřovací testy, například serologické nebo molekulární metody detekce serotypů a/nebo toxinů.^{2,6,9,12,13}

Jedno médium je zřídka dostačující pro detekci všech obsažených potenciálních patogenů.

Proto se doporučuje kultivovat příslušné vzorky také na agaru **BD CHROMagar O157**.

ODKAZY

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. 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.

BALENÍ/DOSTUPNOST

BD MacConkey Agar with Sorbitol

Kat. č. 254455

Médium na miskách k okamžitému použití, 20 kusů v balení

DALŠÍ INFORMACE

Další informace vám poskytne místní zástupce společnosti 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