



BD MacConkey Agar with Sorbitol

APPLICATION

La **BD MacConkey Agar with Sorbitol** (gélose MacConkey au sorbitol), également connue sous l'appellation de Sorbitol MacConkey Agar (SMAC), est un milieu différentiel partiellement sélectif, utilisé pour l'isolement d'*E. coli* O157:H7 à partir d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

E. coli (EHEC) O157:H7 entéro-hémorragique a été identifié pour la première fois en 1982 en tant que pathogène humain.¹ A ce jour, O157:H7 constitue de loin le sérotype le plus fréquemment responsable de cette maladie, même s'il est possible que, parfois, d'autres sérotypes d'*E. coli* soient impliqués dans cette infection ou dans des infections similaires.² En raison de la production de toxines similaires à Shigella (SLT, vérocytotoxine), le sérotype O157:H7 d'*E. coli* est reconnu comme étant impliqué dans des cas de diarrhée, de colite entéro-hémorragique grave et de syndrome urémique hémolytique (SHU). Du point de vue épidémiologique, le syndrome est une maladie d'origine alimentaire souvent liée à la consommation de bœuf insuffisamment cuit ou à la consommation d'autres produits alimentaires de sources animales tels que le lait cru.²⁻⁵

En général, les souches O157 se distinguent des souches d'*E. coli* normales en étant négatives au sorbitol et à la bêta-glucuronidase (β -gluc). Elles peuvent donc être différenciées des souches *E. coli* normales par des moyens biochimiques, lorsque les substrats appropriés sont inclus dans les milieux bactériologiques. La Sorbitol-MacConkey Agar (= SMAC) a été l'un des premiers milieux utilisés pour l'isolement de ces microorganismes.^{6,7}

La MacConkey Agar with sorbitol est une modification de la formule de Rappaport et Henig pour l'isolement des sérotypes entéropathogènes d'*Escherichia coli* O11 et O55.⁸ L'utilité de ce milieu pour détecter la présence d'*E. coli* O157:H7, un pathogène humain associé à la colite hémorragique, a été décrite.⁹⁻¹¹ Ce milieu utilise du D-sorbitol plutôt que du lactose pour isoler et différencier les sérotypes entéropathogènes d'*E. coli* qui ont tendance à être négatifs au sorbitol. Cette gélose peut être utilisée dans le cadre d'analyses cliniques et alimentaires.⁸⁻¹³

Dans la **BD MacConkey Agar with Sorbitol**, les peptones sont sources d'azote. Le D-sorbitol est un glucide fermentescible. La plupart des souches d'*E. coli* hémorragiques ne provoquent pas la fermentation du D-sorbitol et apparaissent sous forme de colonies incolores sur MacConkey Sorbitol Agar. Les sels biliaires et le cristal violet sont des agents sélectifs qui inhibent le développement des microorganismes Gram positifs. Le rouge neutre sert d'indicateur de pH.

REACTIFS

BD MacConkey Agar with Sorbitol

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Peptones	20,0 g
D-sorbitol	10,0
Sels biliaires	1,5
Chlorure de sodium	5,0
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,001
Gélose	15,0

pH 7,1 $\pm$ 0,2

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

IVD . A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration. Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées. Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber pendant 18 à 24 h, entre 35 et 37 °C.

Souches	Croissance
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 NCTC 12900* (négative au sorbitol)	Croissance bonne à importante ; colonies incolores ou beiges
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (positive au sorbitol)	Croissance ; colonies de couleur rose-rouge à rose
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibition partielle à complète

* NCTC 12900 est recommandée comme contrôle de qualité de routine car elle ne produit pas de toxines. La souche est disponible auprès de la *National Collection of Type Cultures* (NCTC), Londres, Royaume-Uni. Pour plus d'informations, consulter l'adresse Internet suivante : www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefsets.htm

METHODE

Matériaux fournis

BD MacConkey Agar With Sorbitol (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Ce milieu est utilisé pour l'isolement d'*Escherichia coli* O157:H7 (et des autres sérotypes négatifs au sorbitol) à partir d'échantillons fécaux provenant de patients susceptibles d'être infectés par cet agent, et pour analyser des échantillons alimentaires, vétérinaires et environnementaux (voir aussi **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**).

Mode opératoire du test

Etaler les échantillons directement sur le milieu, ou utiliser un préenrichissement, comme un Tryptic Soy Broth ou la méthode de séparation immunomagnétique (SIM) **Dynabeads**, conformément aux instructions du fabricant, puis repiquer sur **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. Les techniques de préenrichissement sont particulièrement utiles si les échantillons sont contaminés par de la flore normale.^{14,15} Pour isoler *E. coli* O157:H7 directement à partir d'échantillons fécaux, ensemencer ces derniers ou des écouvillons rectaux sur une petite zone de l'un quadrant et strier afin de créer l'isolement. Ceci permet le développement de colonies distinctes. Il est recommandé d'ensemencer également un milieu plus sélectif, p. ex., une **BD CHROMagar O157**. Incuber en atmosphère aérobie entre 36 ± 2 °C pendant 18 à 24 h.

Résultats

Les microorganismes qui fermentent le sorbitol produisent des colonies de couleur rose sur **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. Les microorganismes qui ne fermentent pas le sorbitol,

comme *E. coli* O157:H7, sont incolores. Les colonies présumées d'*E. coli* O157:H7 d'après la couleur qu'elles présentent, doivent subir des tests de confirmation d'identification, tels que les méthodes sérologique et moléculaire de détection du sérotype et/ou des toxines.^{6,9,12,13}

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD MacConkey Agar with Sorbitol** est un milieu standard pour l'isolement des sérotypes d'*E. coli* négatifs au sorbitol, en particulier le sérotype O157:H7, à partir d'échantillons cliniques et d'autres matières.^{6-13,16}

Au terme d'une période d'incubation prolongée, les souches d'*E. coli* O157:H7 sont capables de fermenter le sorbitol.

La couleur des colonies positives au sorbitol peut s'atténuer, ce qui les rend alors plus difficiles à distinguer des autres colonies négatives au sorbitol.

Il existe des souches de sérotypes autres que O157:H7 négatives au sorbitol, qui sont susceptibles de produire ou pas produire les toxines et les symptômes cliniques.² La **BD MacConkey Agar with Sorbitol** ne permet pas de différencier les souches d'*E. coli* O157 produisant des toxines de celles qui n'en produisent pas.

Des souches d'autres microorganismes ne fermentant pas le sorbitol (comme *Escherichia hermannii*) sont susceptibles de se développer sur MacConkey Sorbitol Agar.

Pour obtenir une identification complète des souches d'*E. coli* O157 isolées à partir d'une **BD MacConkey Agar with Sorbitol** ou d'un autre milieu d'isolement adapté, des tests de confirmation tels que les méthodes sérologique ou moléculaire pour la détection du sérotype et/ou des toxines sont obligatoires.^{2,6,9,12,13}

Un milieu unique est habituellement insuffisant pour détecter l'ensemble des pathogènes potentiels impliqués. Il est par conséquent recommandé de cultiver également les échantillons appropriés sur une **BD CHROMagar O157**.

REFERENCES

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. Anglick. 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. 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.
- 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.

CONDITIONNEMENT

BD MacConkey Agar with Sorbitol

N° réf. 254455 Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités par carton

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de 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