



BD MacConkey Agar with Sorbitol

USO PREVISTO

BD MacConkey Agar with Sorbitol, también conocido como Sorbitol MacConkey Agar (SMAC), es un medio de diferenciación parcialmente selectivo para el aislamiento de *E. coli* O157:H7 a partir de muestras clínicas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

E. coli enterohemorrágica (EHEC) O157:H7 fue reconocida por primera vez como patógeno humano en 1982¹. Hasta el día de hoy, el serotipo O157:H7 es, sin lugar a dudas, el organismo responsable de esta enfermedad con mayor frecuencia, aunque de vez en cuando otros serotipos de *E. coli* pueden estar involucrados en este tipo de infección u otras similares². Debido a la producción de toxinas similares a Shiga (SLT, verocitotoxina), el serotipo O157:H7 de *E. coli* es conocido por estar involucrado en casos de diarrea, colitis enterohemorrágica grave y el síndrome urémico hemolítico (HUS). En términos epidemiológicos, el síndrome es una enfermedad de transmisión por vía alimentaria, a menudo relacionada con el consumo de carne bovina poco cocida u otros alimentos derivados de fuentes animales tales como leche cruda²⁻⁵.

Habitualmente, las cepas O157 son diferentes de las cepas normales de *E. coli* por dar resultado negativo a sorbitol y beta-glucuronidasa (β -gluc). Por tanto, se pueden diferenciar de *E. coli* normal mediante pruebas bioquímicas, cuando se incluyen los sustratos adecuados en los medios bacteriológicos. El agar MacConkey Sorbitol (= SMAC) fue uno de los medios que se utilizaron primero para aislar estos organismos^{6,7}.

El agar MacConkey con sorbitol es una modificación de la fórmula proporcionada por Rappaport y Henig para aislar los serotipos O111 y O55 de *Escherichia coli* enteropatógena⁸. Se ha descrito la utilidad de este medio para detectar *E. coli* O157:H7, un patógeno humano asociado con la colitis hemorrágica⁹⁻¹¹. Este medio emplea D-sorbitol y no lactosa para aislar y diferenciar los serotipos enteropatógenos de *E. coli* que tienden a dar resultados negativos a sorbitol. Se puede utilizar para el análisis de muestras clínicas y alimentos⁹⁻¹³.

En **BD MacConkey Agar with Sorbitol**, las peptonas son fuentes de nitrógeno. D-Sorbitol es un carbohidrato fermentable. La mayoría de las cepas hemorrágicas de *E. coli* no fermentan D-sorbitol y producen colonias incoloras en agar MacConkey Sorbitol. Las sales biliares y el cristal violeta son agentes selectivos que inhiben el crecimiento de organismos gram positivos. El rojo neutro es un indicador del pH.

REACTIVOS

BD MacConkey Agar with Sorbitol

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Peptonas	20,0 g
D-Sorbitol	10,0
Sales biliares	1,5
Cloruro sódico	5,0
Rojo neutro	0,03
Cristal violeta	0,001
Agar	15,0

pH 7,1 \pm 0,2

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD. Solamente para uso profesional. ☒

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, rajaduras o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C, en su envase original hasta momentos antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades pueden utilizarse durante una semana cuando se almacenan en un área limpia a una temperatura de 2 – 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar durante 18 – 24 h a 35 – 37 °C.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 NCTC 12900* (resultado negativo a sorbitol)	Crecimiento de bueno a excelente; colonias incoloras o beige
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (resultado positivo a sorbitol)	Crecimiento; colonias de color de rosado a rosa
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibición de parcial a completa

* NCTC 12900 se recomienda para control de calidad sistemático dado que no produce toxinas. La cepa se puede solicitar de la National Collection of Type Cultures, de Londres, R.U. Para obtener información consultar www.phls.co.uk/labservices/nctc/qcrefsets.htm

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados:

BD MacConkey Agar With Sorbitol (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Material no suministrado:

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

Este medio se utiliza para el aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 (y otros serotipos negativos a sorbitol) a partir de muestras fecales de pacientes con posible infección de este agente, y de alimentos, muestras veterinarias y medioambientales (véase también

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO).

PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

Extender las muestras directamente en placa con el medio, o utilizar un medio ya enriquecido, tal como el caldo de soja tríptica modificada selectiva o separación inmunológica (IMS) con **Dynabeads**, siguiendo las instrucciones del fabricante, y subcultivar en **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. Las técnicas con medios ya enriquecidos son especialmente útiles si las muestras están contaminadas con flora normal^{14,15}. Para aislar *E. coli* O157:H7 directamente de las muestras fecales, inocular las muestras fecales o torundas rectales en una pequeña zona de un cuadrante y extender para su aislamiento. Así se hace posible el desarrollo de colonias discretas. Se recomienda inocular también un medio con un nivel más alto de selectividad, por ejemplo, **BD CHROMagar O157**. Incubar en atmósfera aerobia a 36 ± 2 °C durante 18 – 24 h.

Resultados

Los organismos fermentadores de sorbitol producen colonias de color rosa en **BD MacConkey Agar with Sorbitol**. Los organismos que no fermentan sorbitol, tales como *E. coli* O157:H7, son

incolores. Las colonias identificadas presuntivamente por el color de sus colonias deben confirmarse como *E. coli* O157:H7 mediante métodos serológicos o moleculares para la detección del serotipo y/o de las toxinas^{6,9,12,13}.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD MacConkey Agar with Sorbitol es un medio estándar para el aislamiento de los serotipos de *E. coli* con resultado negativo a sorbitol, en especial O157:H7, a partir de muestras clínicas y de otros materiales^{6-13,16}.

En una incubación prolongada, las cepas de *E. coli* O157:H7 pueden fermentar sorbitol. Es posible que se pierda el color de las colonias con resultado positivo a sorbitol, lo que dificulta su diferenciación de las colonias con resultado negativo a sorbitol.

Existen cepas con resultado negativo a sorbitol que incluyen serotipos diferentes de O157:H7 y que pueden producir o no toxinas y síntomas clínicos². **BD MacConkey Agar with Sorbitol** no diferencia entre las cepas de *E. coli* O157 productoras y no productoras de toxinas.

Las cepas de otros organismos que no fermentan sorbitol (tales como *Escherichia hermannii*) pueden crecer en el agar MacConkey Sorbitol.

Se requieren inevitablemente pruebas de confirmación tales como métodos serológicos o moleculares para la detección del serotipo y/o las toxinas, para lograr una identificación final de las cepas de *E. coli* O157 aisladas de **BD MacConkey Agar with Sorbitol** u otro medio de aislamiento para este organismo^{2,6,9,12,13}.

Sólo en raras ocasiones es posible detectar en un único medio todos los patógenos potenciales involucrados. Por tanto, se recomienda cultivar muestras apropiadas también en **BD CHROMagar O157**.

REFERENCIAS

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 O111 and O55). *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.

ENVASE/DISPONIBILIDAD

BD MacConkey Agar with Sorbitol

Nº de cat. 254455 Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante 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/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2013 BD