



AGAR MACCONKEY SORBITOL (CT-SMAC)

DETECÇÃO DE *ESCHERICHIA COLI* O157

USO

O ágar MacConkey Sorbitol (CT-SMAC) é um meio seletivo usado para o isolamento e diferenciação de *Escherichia coli* O157 em água, leite, produtos à base de carne e outras preparações alimentícias.

HISTÓRIA

O sorotipo O157 de *Escherichia coli* é sorotipo patogênico, identificado pela primeira vez em 1982 como o agente responsável pela colite hemorrágica. Alimentos de origem animal são a principal fonte de contaminação humana. Carne de vaca e tecido de porco, aves e certos produtos lácteos não pasteurizados foram incriminados em toxi-infecções ligadas a *Escherichia coli* O157. Este microrganismo também foi isolado de batatas, cidra de maçã e água da torneira.

Em 1985, Farmer *et* Davis confirmaram o trabalho de Wells *et al.* (1983), ao demonstrar que o sorotipo O157 como caracterizada por sua incapacidade de fermentar o sorbitol, enquanto mais de 80% das cepas de *E. coli* são positivas para o sorbitol. Em 1986, March & Ratnam reforçaram o interesse no uso do ágar MacConkey-Sorbitol para a detecção de *Escherichia coli* O157. Em 1991, Chapman introduziu a cefixima para inibir o *Proteus*. Em 1993, Zadik combinou a ação do telurito de potássio com a da cefixima. A adição desses componentes ao ágar aumenta a frequência de detecção de O157 eliminando um amplo espectro da microflora secundária que pode estar presente na amostra.

PRINCÍPIOS

A tripton e a digestão péptica da carne favorecem o crescimento de *Escherichia coli* O157.

Microrganismos sorbitol negativos (principalmente O157) produzem colônias transparentes.

Microrganismos positivos para sorbitol são detectados pelas colônias que ficam vermelhas (sob a ação do vermelho neutro).

A microflora secundária é inibida pela associação entre os sais biliares, cristal violeta, cefixima e telurito de potássio.

Algumas cepas de *Escherichia coli* O157 são positivas para sorbitol e não serão detectadas diretamente.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter o desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:



- Triptona.....	17,0 g
- Digestão péptica de carne.....	3,0 g
- D-Sorbitol.....	10,0 g
- Sais biliares nº3.....	1,5 g
- Cloreto de sódio.....	5,0 g
- Vermelho neutro.....	30,0 mg
- Cristal violeta.....	1,0 mg
- Cefixima.....	0,05 mg
- Telurito de potássio	2,5 mg
- Ágar bacteriológico.....	13,5 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,1 ± 0,2.

Para 50 g de meio base desidratado BK147

- Triptona.....	17,0 g
- Digestão péptica de carne.....	3,0 g
- D-Sorbitol.....	10,0 g
- Sais biliares nº3.....	1,5 g
- Cloreto de sódio.....	5,0 g
- Vermelho neutro.....	30,0 mg
- Cristal violeta.....	1,0 mg
- Ágar bacteriológico.....	13,5 g

Para um frasco de suplemento BS 037 (Qs 500 mL)

- Cefixima	0,025 mg
- Telurito de potássio.....	1,25 mg

PREPARAÇÃO

- Dissolver 50,0 g de meio base desidratado (BK147) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente leve à fervura, mexendo até a dissolução completa.
- Divida em alíquotas de 100 mL (por frasco).
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfrie e mantenha o meio em estado fundido a 44 – 47°C.
- Reconstitua o suplemento seletivo (BS037) com 5 mL de água estéril.
- Agite o frasco ou vórtice para obter a dissolução completa, o tempo todo evitando a formação de espuma.
- Adicione asepticamente 1 mL do suplemento seletivo reconstituído (BS037) por frasco de 100 mL de meio base.
- Misture bem.
- Despeje em placas de Petri estéreis e deixe solidificar em uma superfície fria.

✓ Reconstituição:
50,0 g/L

✓ Esterilização:
15 min a 121°C

✓ Preparação de suplementos:
5 mL de água estéril

✓ Adicionar à base:
1 mL / 100 mL

INSTRUÇÕES DE USO

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B. P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – França
Tel: + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax: + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.com



- Seque as placas em uma incubadora com as tampas parcialmente removidas.
- Após enriquecimento em caldo triptona de soja modificado com novobiocina (BK150) e após a separação imunomagnética, inocular as placas e espalhar os micróbios.
- Incubar a 37°C durante 18 a 24 horas.

- ✓ Inoculação:
Na superfície
- ✓ Incubação:
18 a 24 h a 37°C.

RESULTADOS

Escherichia coli O157 forma colônias lisas e transparentes que podem apresentar um halo alaranjado de alcalinização. Como a especificidade do meio não é total, as colônias suspeitas devem ser submetidas a testes de aglutinação sorológica em slides com a ajuda de anti-soros O157 específicos.

Ver ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meios base desidratados: pó bege-rosa, de fluxo livre e homogêneo.

Suplemento seletivo: grânulo branco, dando após a reconstituição uma solução transparente e límpida.

Meios preparados: ágar vermelho-violeta.

Resultado do cultivo após 21 horas de incubação a 37°C (NF EN ISO 11133):

Microrganismos	Crescimento	Características	
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 <i>Escherichia coli</i> sorbitol positivo <i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00014 WDCM 00013 WDCM 00034	Bom, nota 2 Fraco, placar 0-1 Inibido, pontuação 0	Colônias transparentes Colônias rosa-avermelhadas -

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio base desidratado: 2 – 30°C.

Suplemento seletivo de Cefixima-Telurito: 2 – 8°C.

As datas de validade estão indicadas nos rótulos.

Suplemento reconstituído (*): 30 dias a 2 – 8 °C.



Meio base preparados em frascos (*): 180 dias a 2 – 8°C.

Meios completos preparados em placas (*): 30 dias a 2 – 8°C.

(*) Valor de referência determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

EMBALAGEM

Meios base desidratado (sem cefixima ou telurito de potássio):

Garrafa de 500 gBK147HA

Suplemento seletivo de Cefixima- Telurito:

10 frascos qsp 500 mL.....BS03708

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Wells, J. G., B. R. Davis, I. K. Wachsmuth, L. W. Riley, R. S. Remis, R. Sokolow, and G. K. Morris. 1983. Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *J. Clin. Microbiol.* 18 : 512-520.

Farmer, J. J. III, and B. R. Davis. 1985. H7 antiserum-sorbitol fermentation medium : a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J. Clin. Microbiol.* 22 : 620-625.

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.

Chapman, P. A., C. A. Siddons, P. M. Zadik, and L. Jewes. 1991. An improved selective medium for the isolation of *Escherichia coli* O157. *J. Med. Microbiol.* 35 : 107-110.

Zadik, P. M., P. A. Chapman, and C. A. Siddons. 1993. Use tellurite for the selection of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *J. Med. Microbiol.* 39 : 155-158.

NF EN ISO 16654. Juillet 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

As informações fornecidas nos rótulos têm precedência sobre as formulações ou instruções descritas neste documento e são suscetíveis de modificação a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: CT SMAC_Env6

Data de criação: 01 – 2003.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B. P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – França
Tel: + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax: + 33 (0)3 44 14 33 34 –www.biokar-diagnostics.com



Data de revisão: 05 – 2016.

Motivo da revisão: Atualização geral.