



ÁGAR MACCONKEY SORBITOL (CT-SMAC)

DETECÇÃO DE *ESCHERICHIA COLI* O157

USO

O Ágar MacConkey Sorbitol (CT-SMAC) é um meio seletivo utilizado 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 um sorotipo patogênico, identificado pela primeira vez em 1982 como o agente responsável pela colite hemorrágica. Os alimentos de origem animal são a principal fonte de contaminação humana. Carne bovina e suína, 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 e 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 *Proteus*. Em 1993, Zadik combinou a ação do telurito de potássio com o da cefixima. A adição destes 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 triptona e a digestão péptica da carne favorecem o crescimento de *Escherichia coli* O157.

Os microrganismos sorbitol negativos (principalmente O157) produzem colônias transparentes.

Os microrganismos sorbitol positivos 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:

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



- Triptona.....	17,0 g
- Digestão péptica de carne.....	3,0 g
- D-Sorbitol.....	10,0 g
- Sais biliares nº 3.....	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 nº 3.....	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 BS037 (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;
- Levar lentamente à ebulição, mexendo até a dissolução completa;
- Dividir em alíquotas de 100 mL (por frasco);
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos;
- Resfriar e manter o meio em estado fundido a 44-47°C;
- Reconstituir o suplemento seletivo (BS037) com 5 mL de água estéril;
- Agitar o frasco ou agitar em vórtex para obter a dissolução completa, o tempo todo evitando a formação de espuma;
- Adicionar assepticamente 1 mL do suplemento seletivo reconstituído (BS037) em cada frasco de 100 mL de meio base;
- Misture bem;
- Despejar em placas de Petri estéreis e deixar solidificar em uma superfície fria.

✓ **Reconstituição:**
50,0 g/L

✓ **Esterilização:**
15 min a 121°C

✓ **Preparação do suplemento:**
5 mL de água estéril

✓ **Adicionar à base:**
1 mL / 100 mL



INSTRUÇÕES DE USO

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

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

RESULTADOS

A *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 lâminas com ajuda de anti-soros O157 específicos.

Ver ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio base desidratado: 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	WDCM 00014	Bom, nota 2	Colônias transparentes
<i>Escherichia coli</i> sorbitol positivo	WDCM 00013	Fraco, nota 0-1	Colônias rosa-avermelhadas
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inibido, nota 0	-

ARMAZENAMENTO / CONSERVAÇÃO

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.

Meios 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

Meio base desidratado (sem cefixima ou telurito de potássio)

Garrafa de 500 g.....BK147HA

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.

Data de revisão: 05 – 2016.

Motivo da revisão: Atualização geral.



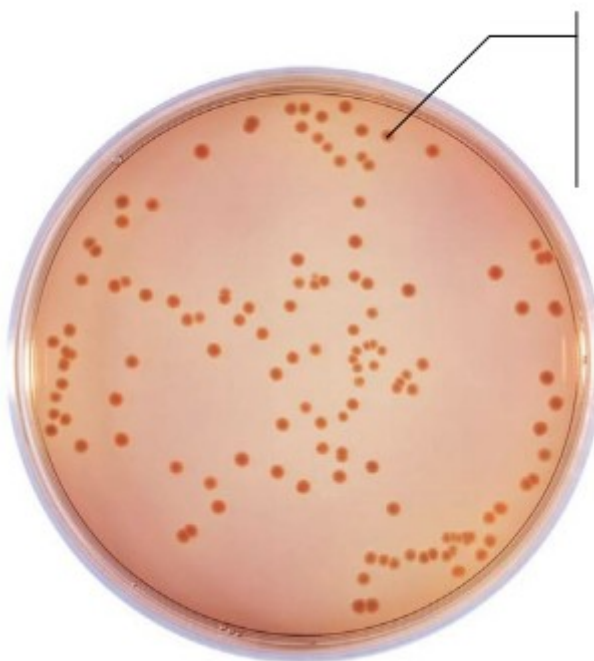
ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

Ágar MacConkey Sorbitol (CT-SMAC)

Deteção de *Escherichia coli* O157.

Resultados:

Crescimento obtido após 24 horas de incubação a 37°C.



***Escherichia coli* O157**

Característica da colônia:
lisa, transparente e pode ter
um halo alaranjado de
alcalinização

Nota: As colônias são levemente coloridas artificialmente pela absorção dos corantes presentes na formulação do meio. As colônias de *E. coli* **não**-O157:H7 são vermelhas e de tamanho muito maior.