

Agar MacConkey con Sorbitol (CT-SMAC) ISO

Cat. 1099

Medio selectivo y diferencial para E. coli O157: H7

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Detección	Escherichia coli O157

Industria: Clínica / Alimentación

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 16654



Principios y usos

El Agar MacConkey con Sorbitol (CT-SMAC) se basa en la fórmula desarrollada por Rappaport & Hening. Este medio se recomienda para la investigación de E. coli O157: H7 en ensayos clínicos y de alimentos. La composición es similar a Agar MacConkey (Cat. 1052) pero la lactosa ha sido sustituida por sorbitol para diferenciar los serotipos de E. coli enteropatógenos. Estas cepas son típicamente sorbitol-negativas. En el agar MacConkey estándar que contiene lactosa, esta cepa no se puede distinguir de otras E. coli fermentadoras de lactosa.

La peptona de gelatina proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El sorbitol es la fuente de energía de carbohidratos. Las sales biliares N° 3 y el cristal violeta son inhibidores de organismos Gram positivos. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico. El rojo neutro es el indicador de pH, cuando se fermenta el sorbitol, el pH del medio disminuye, cambiando el color del rojo neutro al rosa. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

E. coli O157: H7 no fermenta el sorbitol y por lo tanto produce colonias incoloras. Como la mayoría de las otras E. coli lo fermentan, sus colonias son rosadas.

E. coli O157: H7 se ha convertido en un problema de salud pública generalizado, ya que es responsable de la colitis hemorrágica, que se caracteriza por una diarrea hemorrágica con dolor abdominal agudo. El tratamiento antibiótico incorrecto puede aumentar el riesgo de desarrollar síndrome hemolítico urémico, una complicación potencialmente mortal de esta forma de colitis.

Fórmula en g/L

Digerido enzimático de caseína	17	Agar bacteriológico	15
Sales biliares N° 3	1,5	Cristal violeta	0,001
Rojo neutro	0,03	Cloruro sódico	5
Sorbitol	10	Digerido enzimático de tejido animal	3

Preparación

Suspender 51,5 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta la disolución completa. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar a 44-47 °C y, si se desea, agregar asépticamente dos viales de Suplemento Telurito Cefixima (Cat. 6064), previamente reconstituido en 5 ml de agua destilada estéril.

Instrucciones de uso

- » Para diagnóstico clínico, el tipo de muestra es heces.
- Inocular en superficie. Estrías paralelas con el asa o hisopo.
- Incubar en condiciones aeróbicas a 35±2 °C durante 18-24 horas.
- Lectura e interpretación de los resultados.

- » Para otros usos no amparados por el marcado CE:
Detección de Escherichia coli O157 según ISO 16654:

- Preparar la suspensión inicial agregando la porción de prueba al Caldo Soja Trypticaseína Modificado con Novobiocina (Cat. 1292) precalentado a 41,5 °C para obtener una proporción de 1/10.
- Incubar durante 6 horas y luego otras 12 a 18 horas a 41,5 °C.
- Separar y concentrar los microorganismos mediante partículas inmunogénicas recubiertas con anticuerpos a E. coli O157.

- Subcultivar las partículas inmunomagnéticas con las bacterias adheridas en Agar MacConkey con Sorbitol (Cat. 1099) y un segundo agar de aislamiento selectivo elegido por el laboratorio. La temperatura óptima de incubación para E. coli O157 es de 37±1 °C durante 18-24 horas.
- Confirmar mediante la producción de indol en Caldo de Cultivo Triptófano (Cat. 1237) y aglutinación con el suero anti E. coli O157.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige rosa	Rojo violeta	7,1±0,2

Test microbiológico

De acuerdo a ISO 11133:

Condiciones de incubación: (37±1 °C / 21±3 h).

Condiciones de inoculación: Productividad cualitativa (10³ - 10⁴ CFU) / Selectividad (10⁴-10⁶ CFU).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Escherichia coli ATCC 25922	Partial inhibition (1)	Crecimiento de algunas colonias rosas
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Inhibición total (0)	
Escherichia coli O157:H7 ATCC 700728	Buen crecimiento (2)	Colonias transparentes con un aspecto marrón amarillento pálido y un diámetro ~1 mm

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C

Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

Rappaport F. and Hening E. (1952), J.Clin.Path, 5.361. Karmali M.A. (1988), Culture, 9,2. Doyle M.P. and Schoeni S.L (1984), Appl. and Envir. Microbiol., 48, 855-856.

ISO 16654 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Escherichia coli O157.