

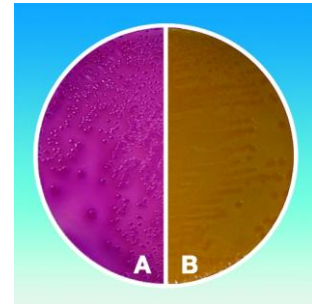
SORBITOL-MACCONKEY-AGAR

Selektiv- und Differenzierungsmedium zur Detektion von sorbitolfermentierenden *E. coli* O157:H7
SMAC-Agar
ISO 11133 / ISO 16654 / für die Mikrobiologie
5778

Zusammensetzung in g/l (angenähert):

Pepton aus Gelatine.....	20,0
Sorbitol	10,0
Natriumchlorid.....	5,0
Gallesalze (Cholat) No. 3.....	1,5
Neutralrot.....	0,03
Kristallviolett	0,001
Agar.....	15,0
pH-Wert	7,1 ± 0,2

A – *Escherichia coli*
ATCC 25922
B – *Escherichia coli*
O157:H7



HERSTELLUNG

51,5 g des Mediums werden in einem Liter destillierten Wasser suspendiert. Man mische gut und erhitze unter häufigem Rühren/Schütteln und lasse eine Minute lang kochen. Man sterilisiere im Autoklaven 15 min lang bei 121 °C. Man lasse die Lösung auf 45–50 °C abkühlen und gieße jeweils 20 ml in Petrischalen. Die Selektivität des Mediums für *E. coli* O157:H7 Stämme kann weiter erhöht werden durch Zugabe von Kaliumtellurit (2,5 g/l) und Cefixim (50 mg/l).

EINSATZGEBIET

Sorbitol-MacConkey-Agar basiert auf der Zusammensetzung, die von Rappaport und Hening (1952) beschrieben wurde. Das Medium wird empfohlen für den Nachweis von *E. coli* O157:H7 in klinischen und Lebensmittelproben. *E. coli* O157:H7 stellt ein schwerwiegendes Problem im öffentlichen Gesundheitswesen dar, da es in zunehmendem Maß für hämorrhagische Colitis verantwortlich ist, die durch blutige Diarrhö und schwere Leibschmerzen charakterisiert wird. Falsche Antibiose erhöht das Risiko für das hämolytische urämisches Syndrom, einer potentiell tödlichen Komplikation dieser Form der Colitis. Der zuverlässige und eindeutige Nachweis von *E. coli* O157:H7 ist daher äußerst wichtig für eine schnelle und zielgerichtete Behandlung der Patienten.

Da alle *E. coli* Stämme Lactose fermentieren, können auf Platten mit üblichem MacConkey-Agar (mit Lactose) enteropathogene Stämme nicht von anderen *E. coli* unterschieden werden. Eine differentielle Analyse ist nicht möglich. Die Zusammensetzung des Sorbitol-MacConkey-Agar ist ähnlich zu der Standardformulierung, die Lactose wurde here allerdings durch Sorbitol ersetzt. Da nun enteropathogene *E. coli* Serotypen – im Gegensatz zu nahezu allen anderen Stämmen – typischerweise Sorbitol(fermentierung-)negative sind, kann diese Sorbitolfermentierung zur Differenzierung von O157:H7 von anderen Serotypen verwendet werden.

Durch den pH-Indikator Neutralrot kann die An- oder Abwesenheit der Sorbitolfermentierung nachgewiesen werden: Wird Sorbitol fermentiert (bei den meisten nicht-enteropathogenen *E. coli* Serotypen), sinkt der pH-Wert des Mediums und die Farbe schlägt um von neutral-beige zu pink (siehe Abb. A). *E. coli* O157:H7 fermentiert Sorbitol nicht, so dass die Kolonien im neutralen pH-Wert farblos bis grau wachsen (siehe Abb. B). Die Gallosalze und das Kristallviolett unterdrücken die Gram-positive Begleitflora. Die optimalen Inkubationsparameter für *E. coli* O157:H7 betragen 35±2 °C für 18-24 Stunden.

MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Medium / Agar bei einer Temperatur von 35±2 °C für 18-24 Stunden.

Mikroorganismen	Wachstum	Kolonienscheinung
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gut	Pink-rot
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Gut	Farblos bis neutral-grau, milchiges Zentrum

Rappaport F. and Hening E. (1952) *J. Clin. Path.* 5:361-2.
Karmali M.A. et al. (1985), *J. Infect. Dis.* 151:775-82.
Weagant S.D. et al. (1995) *J. Food Prot.* 58:7-12
Doyle M.P. and Schoeni S.L (1984) *Appl. Envir. Microbiol.* 48:855-6.

Product Data Sheet

SORBITOL MACCONKEY AGAR

Selective and differential medium for detection of sorbitol-fermenting *E. coli* O157:H7

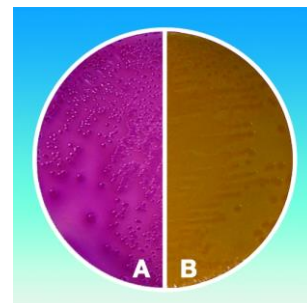
SMAC Agar

ISO 11133 / ISO 16654 / for Microbiology
5778

Approximate formula in g/l:

Pancreatic digest of gelatin.....	20.0
Sorbitol	10.0
Sodium chloride	5.0
Bile salts (cholate) No. 3.....	1.5
Neutral red	0.03
Crystal violet.....	0.001
Agar.....	15.0
Final pH	7.1 ± 0.2

A – *Escherichia coli*
ATCC 25922
B – *Escherichia coli*
O157:H7



PREPARATION

Suspend 51.5 g of the medium in one liter of distilled or deionised water. Mix well and heat with frequent agitation. Boil for one minute. Sterilise in an autoclave at 121 °C for 15 minutes. Cool to 45-50 °C and pour into Petri dishes, 20 ml in each dish. Selectivity of the medium for *E. coli* O157:H7 strains may be further enhanced by adding potassium tellurite (2.5 g/l) and cefixime (50 mg/l).

USES

Sorbitol MacConkey Agar is based on the formula developed by Rappaport and Hening (1952). This medium is recommended for detection of *E. coli* O157:H7 in clinical and food testing.

E. coli O157:H7 has become a widespread public health issue as it is responsible for increasing numbers of hemorrhagic colitis, characterised by a bleeding diarrhoea with acute abdominal pain. Incorrect antibiotic treatment may increase the risk of haemolytic uraemic syndrome development, a potentially fatal complication of this form of colitis. Reliable and distinct detection of *E. coli* O157:H7 is, therefore, vital for rapid and appropriate treatment of the patients.

Since all strains of *E. coli* ferment lactose, enteropathogenic strains cannot be distinguished from other *E. coli* using plates with standard MacConkey Agar (containing lactose). Differentiating analyses is such impossible. The composition of Sorbitol MacConkey Agar is similar to the standard formulation, but the lactose has been substituted with sorbitol. Since, in contrast to nearly all other strains, enteropathogenic *E. coli* serotypes are typically sorbitol (fermentation-)negative, sorbitol fermentation may be used for differentiating the O157:H7 from other serotypes.

Due to the pH indicator neutral red, presence, or absence, of sorbitol fermentation can be identified: When sorbitol is fermented (most non-enteropathogenic serotypes of *E. coli*) the pH of the medium decreases, changing the colour from neutral to pink (see figure A). *E. coli* O157:H7 does not ferment sorbitol and therefore produces colourless colonies due to the lack of pH shift (see figure B). By bile salts No. 3 and crystal violet, the accompanying Gram positive organisms are inhibited.

Optimal incubation parameters for *E. coli* O157:H7 is 35±2 °C for 18-24 hours.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the given medium from type cultures after incubation at a temperature of 35±2 °C and observed after 18-24 hours.

Microorganisms	Growth	Colony appearance
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Good	Pink-red
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Good	Colourless/ neutral-grey, with smoky center

Rappaport F. and Hening E. (1952) *J. Clin. Path.* 5:361-2.
Karmali M.A. *et al.* (1985), *J. Infect. Dis.* 151:775-82.
Weagant S.D. *et al.* (1995) *J. Food Prot.* 58:7-12
Doyle M.P. and Schoeni S.L (1984) *Appl. Environ. Microbiol.* 48:855-6.

SORBITOL MACCONKEY AGAR

500 g

5778.1

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.

sse 07/2021

