



MacConkey Sorbitol Agar

Selective and differential medium for detection of *E. coli* O157
from clinical samples and other materials.

DESCRIPTION

MacConkey Sorbitol Agar is a partially selective and differential medium used for the isolation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7, from clinical specimens, food and environmental samples.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Pancreatic Digest of Gelatin	17.0
Peptone from Meat	1.5
Peptone from Casein	1.5
D-Sorbitol	10.0
Sodium Chloride	5.0
Bile Salts	1.5
Agar	15.0
Neutral Red	0.03
Crystal Violet	0.001
Final pH 7.1 ± 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of gelatin and peptones from meat and casein provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Sorbitol is the fermentable carbohydrate. Sodium Chloride maintains the osmotic balance of the medium. Bile salts and crystal violet are the selective agents, inhibiting Gram-positive organisms and allowing Gram-negative bacteria to grow. Agar is the solidifying agent. Neutral red is the pH indicator.

PREPARATION

- | | |
|--------------------------|---|
| <u>Dehydrated medium</u> | Suspend 51.5 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil for 1 minute shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes. |
| <u>Medium in bottles</u> | Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes. |

TEST PROCEDURE

Inoculate the plates by directly streaking the specimen on the agar surface or spread the sample from an enrichment culture. Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 h

INTERPRETING RESULTS

Sorbitol-fermenting organisms, such as common *E. coli* strains, produce pink to red colonies. Organisms that do not ferment sorbitol, such as *E. coli* O157:H7, grow as colorless colonies. Serological or molecular tests are required for confirmation of the serotype and/or of the toxins. Enterococci, Staphylococci and other Gram-positive bacteria are partially or completely inhibited.

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, beige-pink.
Prepared medium: slightly opalescent, pinkish-red.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.
 Medium in bottles: 2 years.
 Ready-to-use plates: 6 months.

QUALITY CONTROL

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 50-100 CFU

Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU

Incubation conditions: aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 hours.

QC Table.

Microorganism		Growth	Specification
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (sorbitol-negative)	ATCC® 33150	Good	Colorless colonies
<i>Escherichia coli</i> (sorbitol-positive)	ATCC® 25922	Good	Pink colonies
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Partially to completely inhibited	Very small, opaque colonies

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *in vitro* diagnostic use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

1. Murray, Baron, Jorgensen, Landry and Pfaffer ed. (2007) Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Kaper, J.B., O'Brien, A.D. ed. (1998) Escherichia coli O157:H7 and Other Shiga Toxin- Producing E. coli strains. American Society for Microbiology, Washington, DC, USA.
3. 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.
4. MacConkey A. (1905) Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hygiene 8:333-379.

PRESENTATION	Contents	Ref.
MacConkey Sorbitol Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates
MacConkey Sorbitol Agar	90 mm ready-to-use plates	100 plates
MacConkey Sorbitol Agar	Bottles	6 x 100 ml bottles
MacConkey Sorbitol Agar	Dehydrated medium	500 g of powder
MacConkey Sorbitol Agar	Dehydrated medium	100 g of powder

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In vitro Medical Diagnostic Device</i>	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





MacConkey Sorbitol Agar

Terreno selettivo e differenziale per la ricerca di *E. coli* O157
da campioni clinici ed altri materiali.

DESCRIZIONE

MacConkey Sorbitol Agar è un terreno parzialmente selettivo utilizzato per l'isolamento di *Escherichia coli* O157:H7 enteroemorragico, da campioni clinici, alimenti e campioni ambientali.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Pancreatico di Gelatina	17.0
Peptone da Carne	1.5
Peptone da Caseina	1.5
D-Sorbitolo	10.0
Sodio Cloruro	5.0
Sali di Bile	1.5
Agar	15.0
Rosso Neutro	0.03
Cristal Violetto	0.001
pH Finale 7.1 ± 0.2 a 25°C	

PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito pancreatico di gelatina ed i peptoni da carne e caseina forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. Il sorbitolo è il carboidrato fermentabile. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. I sali di bile ed il cristal violetto sono gli agenti selettivi che inibiscono i microrganismi Gram positivi e consentono la crescita dei batteri Gram negativi. L'agar è l'agente solidificante. Il rosso neutro è l'indicatore di pH.

PREPARAZIONE

- | | |
|----------------------------|--|
| <u>Terreno disidratato</u> | Sospendere 51.5 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire per 1 minuto per ottenere la completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. |
| <u>Terreno in flaconi</u> | Sciogliere il contenuto di un flacone in bagnomaria a 100°C (con il tappo leggermente svitato) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi. |

PROCEDURA DEL TEST

Inoculare le piastre strisciando il campione clinico direttamente sulla superficie dell'agar o spatalare il materiale proveniente da una coltura di arricchimento. Incubare in atmosfera aerobica a 35 ± 2°C per 18-24 h.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I microrganismi che fermentano il sorbitolo, come i ceppi comuni di *E. coli*, producono colonie da rosa a rosso. I microrganismi che non fermentano il sorbitolo, come *E. coli* O157:H7, crescono come colonie incolori. Sono necessari test di tipo sierologico o molecolare per la conferma del sierotipo e/o delle tossine. Enterococchi, Stafilococchi ed altri batteri Gram positivi risultano parzialmente o completamente inibiti.

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige-rosa.
Terreno preparato: rosastro-rosso, leggermente opalescente.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi e le piastre pronte a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.

Terreno in flaconi: 2 anni.

Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 50-100 UFC.

Inoculo per selettività: 10⁴-10⁶ UFC.

Condizioni di incubazione: ambiente aerobico a 35 ± 2°C per 18-24 ore.

Tabella CQ.

Microrganismo	Crescita	Specifiche
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (sorbitolo negativo)	ATCC® 33150	Buona
<i>Escherichia coli</i> (sorbitolo positivo)	ATCC® 25922	Buona
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Da parzialmente a completamente inibita
		Colonie molto piccole opache

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

1. Murray, Baron, Jorgensen, Landry and Pfaller ed. (2007) Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Kaper, J.B., O'Brien, A.D. ed. (1998) Escherichia coli O157:H7 and Other Shiga Toxin- Producing E. coli strains. American Society for Microbiology, Washington, DC, USA.
3. 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.
4. MacConkey A. (1905) Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hygiene 8:333-379.

PRESENTAZIONE	Contenuto	Ref.
MacConkey Sorbitol Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre
MacConkey Sorbitol Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	100 piastre
MacConkey Sorbitol Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 100 ml
MacConkey Sorbitol Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere
MacConkey Sorbitol Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT	Codice del lotto	IVD	<i>In vitro Diagnostic Medical Device</i>		Fabbricante		Utilizzare entro		Fragile, maneggiare con cura	
REF	Numero di catalogo		Limiti di temperatura		Contenuto sufficiente per <n> saggi			Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso		Non riutilizzare

**LIOFILCHEM® s.r.l.**Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net