

GELOSE MACCONKEY SORBITOL (CT-SMAC)

DETECTION DES *ESCHERICHIA COLI* O157

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose MacConkey Sorbitol (CT-SMAC) est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et la différenciation des *Escherichia coli* O157 à partir de l'eau, du lait, de la viande de bœuf et des autres produits alimentaires.

2 HISTORIQUE

Le sérotype O157 d'*Escherichia coli* est un sérotype pathogène, identifié pour la première fois en 1982, comme agent responsable de colites hémorragiques. L'alimentation d'origine animale est la source principale de contamination humaine. La viande de bœuf, de porc, les volailles et certains produits laitiers non pasteurisés ont été incriminés dans les toxi-infections à *Escherichia coli* O157. Ce microorganisme a également été isolé à partir de pommes de terre, de cidre et d'eau du robinet.

En 1985, Farmer et Davis confirment les travaux de Wells *et al.* (1983), en démontrant que le sérotype O157 se caractérise par son incapacité à fermenter le sorbitol, alors que 80% des souches d'*Escherichia coli* sont sorbitol-positifs. En 1986, March et Ratnam soulignent l'intérêt de l'utilisation de la gélose MacConkey-Sorbitol pour la détection des colonies d'*Escherichia coli* O157. En 1991, Chapman introduit l'utilisation du céfixime pour inhiber les *Proteus*. En 1993, Zadik combine l'action du tellurite de potassium au céfixime. L'addition de ces composés dans la gélose augmente la fréquence de détection des colonies d'*Escherichia coli* O157, en éliminant de manière importante les microorganismes de la microflore secondaire.

3 PRINCIPES

La polypeptone favorise la croissance des *Escherichia coli* O157.

Les microorganismes sorbitol-négatifs (notamment O157) présentent des colonies incolores.

Les microorganismes capables de fermenter le sorbitol sont mis en évidence par le virage au rouge du rouge neutre.

La microflore secondaire est inhibée par l'association entre les sels biliaires, le cristal violet, le céfixime et le tellurite de potassium.

Quelques souches d'*Escherichia coli* O157 sont sorbitol positives et ne seront donc pas détectées.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	17,0 g
- Peptone pepsique de viande	3,0 g
- D-Sorbitol	10,0 g
- Sels biliaires n°3.....	1,5 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Rouge neutre	30,0 mg
- Cristal violet.....	1,0 mg
- Céfixime	0,05 mg
- Tellurite de potassium	2,5 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,1 ± 0,2.

Pour 50 g de base déshydratée BK147

- Tryptone	17,0 g
- Peptone pepsique de viande	3,0 g
- D-Sorbitol	10,0 g
- Sels biliaires n°3	1,5 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Rouge neutre	30,0 mg
- Cristal violet	1,0 mg
- Agar agar bactériologique.....	13,5 g

Pour un flacon de supplément BS037

(Qs 500 mL)

- Céfixime	0,025 mg
- Tellurite de potassium	1,25 mg

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 50,0 g de milieu de base déshydraté (BK147) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir à raison de 100 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.

- Reconstituer le supplément sélectif (BS037) avec 5 mL d'eau stérile.
- Agiter le flacon ou vortexer de façon à obtenir une dissolution complète, tout en évitant la formation de mousse.

- Ajouter stérilement 1 mL de supplément sélectif reconstitué (BS037) par flacon de 100 mL.
- Homogénéiser parfaitement.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
50,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

✓ **Réhydratation supp.**
5 mL eau stérile

✓ **Ajout base :**
1 mL / 100 mL

6 MODE D'EMPLOI

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- Après enrichissement sur bouillon Tryptone soja modifié avec novobiocine (BK150) et après séparation immuno-magnétique, ensemercer la gélose et étaler les billes.
- Incuber à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
18 h à 24 h à 37 °C

7 LECTURE

Escherichia coli O157 forme des colonies lisses, incolores, pouvant présenter un halo orangé d'alcalinisation. La spécificité du milieu n'étant pas totale, les colonies suspectes doivent être soumises à un test sérologique d'agglutination sur lame à l'aide d'antisérums O157.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu de base déshydraté : poudre beige-rosé, fluide et homogène.

Supplément sélectif : lyophilisat blanc, donnant après reconstitution une solution incolore, limpide.

Milieu préparé : gélose rouge-violacé.

Réponse culturale après 21 heures d'incubation à 37 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes		Croissance	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	WDCM 00014	Bonne, score 2	Colonies incolores
<i>Escherichia coli</i> sorbitol-positif	WDCM 00013	Faible, score 0-1	Colonies roses
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inhibée, score 0	-

9 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30 °C.

Supplément sélectif Céfixime-Tellurite : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Supplément reconstitué (*) : 30 jours à 2-8 °C.

Milieu de base préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu complet préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu de base déshydraté (sans céfixime, ni tellurite de potassium) :

Flacon de 500 g BK147HA

Supplément sélectif Céfixime-Tellurite :

Coffret de 10 flacons qsp 500 mL BS03708

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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.

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : CT SMAC_FR_V5.

Date création : 01-2003

Date de révision : 03-2016

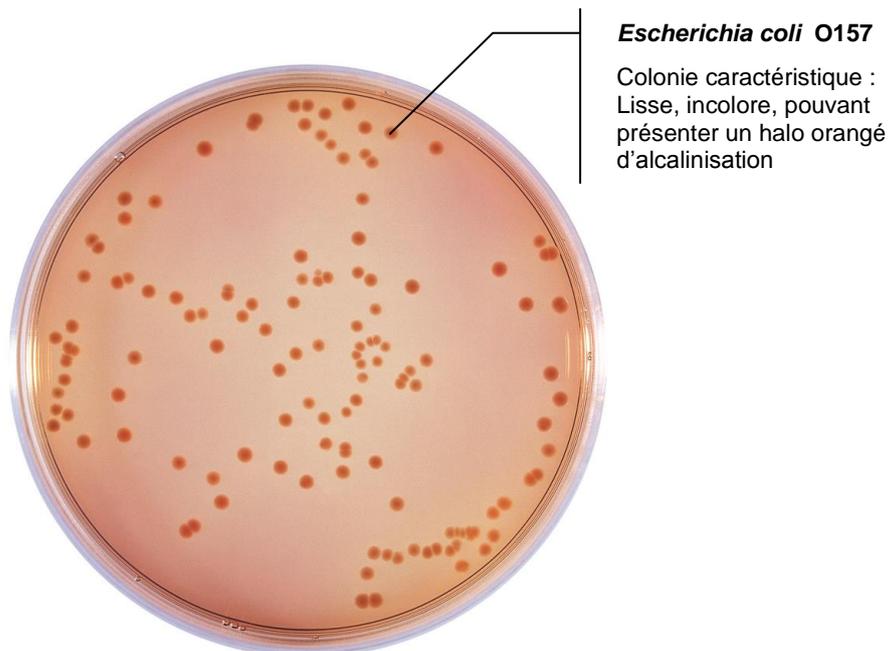
Motif de révision : Révision générale.

Gélose MacCONKEY Sorbitol (CT-SMAC)

Détection des *Escherichia coli* O157.

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37 °C.



Note : Les colonies sont légèrement colorées de façon artificielle par l'absorption des colorants présents dans la formulation du milieu. Les colonies d'*Escherichia coli* non-O157:H7 sont rouges, de taille nettement supérieure.