



MacConkey Agar

Selective and differential medium for detection of Enterobacteriaceae from clinical samples and other materials, according to USP/EP/JP.

DESCRIPTION

MacConkey Agar is a slightly selective medium giving excellent differentiation between lactose-fermenting and lactose-nonfermenting Gram-negative enteric bacilli, from faeces, urine, foodstuffs, waste water and other materials of sanitary importance.

This medium is prepared according to recommendations of the harmonized USP/EP/JP method for the detection of *E. coli* in non sterile pharmaceutical products.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Pancreatic Digest of Gelatin	17.0
Peptone from Meat	1.5
Peptone from Casein	1.5
Lactose	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	

* Adjusted according to gel strength to meet performance specifications.

METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of gelatin and peptones from meat and casein provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Lactose 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

To isolate *E. coli* in pharmaceutical products, the Harmonized USP/EP/JP method recommends to carry out a two steps enrichment procedure by inoculating the sample in Tryptic Soy Broth (ref. 452080) and afterwards in MacConkey Broth (ref. 494000). Subculture on a plate of MacConley Agar and incubate aerobically at 30-35°C for 18-72 hours.

INTERPRETING RESULTS

Lactose-nonfermenting organisms, such as *Salmonella*, *Shigella* and *Proteus* spp, form colorless or clear colonies.

Lactose-fermenting organisms, such as *E. coli* and *Klebsiella* spp, grow as pink to red colonies with or without a zone of precipitated bile.

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.

18-72 h at 30-35°C for *E. coli* (Pharmacopoeia growth promotion).

QC Table.

Microorganism		Growth	Specification
<i>Salmonella</i> Typhimurium	ATCC® 14028	Good	Colorless colonies
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC® 12022	Good	Colorless colonies
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Good	Colorless colonies
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Good	Pink colonies with bile ppt
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	Good	Pink colonies
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Partially to completely inhibited	Very small, opaque colonies
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Inhibited	---

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

- European Pharmacopoeia 6.5 (2009). 2.6.13 Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009). <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008). Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- Murray, Baron, Jorgensen, Landry and Pfaller ed. (2007) Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- MacConkey A. (1905) Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hygiene 8:333-379.

PRESENTATION		Contents	Ref.
MacConkey Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	10029
MacConkey Agar	90 mm ready-to-use plates	100 plates	10029*
MacConkey Agar	Bottles	6 x 500 ml bottles	470090
MacConkey Agar	Bottles	6 x 200 ml bottles	412240
MacConkey Agar	Bottles	6 x 100 ml bottles	402240
MacConkey Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610028
MacConkey Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620028
MacConkey Agar	Dehydrated medium	5 kg of powder	6100285

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In vitro</i> Medical Diagnostic Device	 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 Agar

Terreno selettivo e differenziale per la ricerca delle Enterobacteriaceae da campioni clinici ed altri materiali, secondo USP/EP/JP.

DESCRIZIONE

MacConkey Agar è un terreno leggermente selettivo utilizzato per l'isolamento dei bacilli enterici Gram negativi dalle feci, urine, alimenti, acque di scarico ed altri materiali di importanza sanitaria e la differenziazione dei microrganismi che fermentano il lattosio dai non fermentanti.

Questo terreno è conforme alle raccomandazioni del metodo armonizzato delle Farmacopee Statunitense (USP) Europea (EP) e Giapponese (JP) per la ricerca di *E. coli* nei prodotti non sterili.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Pancreatico di Gelatina	17.0
Peptone da Carne	1.5
Peptone da Caseina	1.5
Lattosio	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	

* Modificato in base alla forza del gel per soddisfare le specifiche di performance.

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 lattosio 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 spatolare il materiale proveniente da una coltura di arricchimento. Incubare in atmosfera aerobica a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 18-24 ore.

Per l'isolamento di *E. coli* da prodotti farmaceutici, il metodo armonizzato USP/EP/JP raccomanda di seguire una procedura di arricchimento in due passaggi consecutivi. Ovvero, inoculare il campione in Tryptic Soy Broth (ref. 452080) ed utilizzare la coltura ottenuta per inoculare MacConkey Broth (ref. 494000). Quindi subcoltivare su una piastra di MacConkey Agar ed incubare a 30-35°C per 18-72 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I microrganismi che non fermentano il lattosio, come *Salmonella*, *Shigella* e *Proteus* spp, formano colonie incolori o chiare.

I microrganismi fermentanti il lattosio, come *E. coli* e *Klebsiella* spp, crescono come colonie di colore da rosa a rosso con o senza un alone di precipitati di bile.

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.

18-72 ore a 30-35°C per *E. coli* (Pharmacopoeia growth promotion).

Tabella CQ.

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Salmonella</i> Typhimurium	ATCC® 14028	Buona	Colonie incolori
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC® 12022	Buona	Colonie incolori
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Buona	Colonie incolori
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Buona	Colonie rosa con precipitati di bile
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	Buona	Colonie rosa
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Da parzialmente a completamente inibita	Colonie molto piccole ed opache
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Inibita	---

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. European Pharmacopoeia 6.5 (2009). 2.6.13 Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
2. United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009). <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
3. Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008). Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
4. Murray, Baron, Jorgensen, Landry and Pfaller ed. (2007) Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. MacConkey A. (1905) Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hygiene 8:333-379.

PRESENTAZIONE

		Contenuto	Ref.
MacConkey Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	10029
MacConkey Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	100 piastre	10029*
MacConkey Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 500 ml	470090
MacConkey Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 200 ml	412240
MacConkey Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 100 ml	402240
MacConkey Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere	610028
MacConkey Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere	620028
MacConkey Agar	Terreno disidratato	5 kg di polvere	6100285

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	IVD <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device	 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





MacConkey Agar

Medio selectivo y diferencial para la detección de Enterobacteriaceae a partir de muestras clínicas y otros materiales de acuerdo a USP/EP/JP.

DESCRIPCIÓN

MacConkey Agar es un medio ligeramente selectivo que proporciona una excelente diferenciación entre bacilos entéricos Gram-negativos lactosa-fermentantes y no fermentantes, de heces, orina, alimentos, aguas residuales y otros materiales de importancia sanitaria.

Este medio sigue las recomendaciones del método armonizado de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), Farmacopea Europea (EP) y Farmacopea Japonesa (JP) para la detección de *E. coli* en productos no estériles.

FÓRMULA	(g/l)
Digerido Pancreático de Gelatina	17.0
Peptona de Carne	1.5
Peptona de Caseína	1.5
Lactosa	10.0
Cloruro Sódico	5.0
Sales Biliares	1.5
Agar	15.0*
Rojo Neutro	0.03
Violeta de Cristal	0.001
pH final 7.1 ± 0.2 a 25°C	

* Ajustado según la consistencia del gel para alcanzar las especificaciones de actuación.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El digerido pancreático de gelatina, y las peptonas suministran los aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de los microorganismos. La lactosa es el carbohidrato fermentable. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico del medio. Las sales biliares y el violeta de cristal son agentes selectivos que inhiben a los organismos Gram-positivos, permitiendo el crecimiento de los Gram-negativos. El agar es el agente solidificante. El rojo neutro es el indicador de pH.

PREPARACIÓN

<u>Medio deshidratado</u>	Suspender 51.5 g del polvo deshidratado en 1 litro de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Calentar hasta la ebullición removiendo frecuentemente hasta la completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
<u>Medio en botellas</u>	Disolver el contenido de la botella en un baño con agua a 100°C (con el tapón ligeramente desenroscado) hasta su completa disolución. Comprobar la homogeneidad del medio disuelto, girar la botella si es necesario para ayudar a la homogeneización. Enfriar a 45-50°C, mezclar bien evitando la formación de burbujas y distribuir en placas Petri de forma aseptica.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

Inocular las placas directamente por estriación en el agar o extender la muestra procedente de un medio pre-enriquecido. Incubar en aerobiosis a 35 ± 2°C durante 18-24 h

Para aislar *E. coli* en productos farmacéuticos, los métodos armonizados de las farmacopeas USP/EP/JP recomiendan realizar antes dos pasos de enriquecimiento inoculando la muestra en Tryptic Soy Broth (ref. 452080) y posteriormente en MacConkey Broth (ref. 494000). Realizar un subcultivo en una placa de MacConkey Agar e incubar aerobicamente a 30-35°C durante 18-72 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los organismos no fermentantes de la lactosa, como *Salmonella*, *Shigella* y *Proteus* spp, forman colonias claras o incoloras.

Los organismos fermentantes de la lactosa, como *E. coli* y *Klebsiella* spp, forman colonias rojo-rosáceas con o sin zona de precipitado de bilis.

Los Enterococci, Staphylococci y otras bacterias Gram-positivas están inhibidas parcial o completamente.

ASPECTO

Medio deshidratado: suelto, homogéneo, beige rosáceo.

Medio preparado: ligeramente opalescente, rojo - rosáceo.

ALMACENAMIENTO

El polvo deshidratado es muy higroscópico, almacenar a 10-30°C, en un entorno seco, en su frasco original correctamente cerrado. Almacenar las botellas y las placas preparadas a 10-25°C fuera del contacto de la luz. No utilizar el producto fuera de la fecha de caducidad descrita en la etiqueta o si el producto presenta alguna muestra de deterioro o contaminación.

VIDA ÚTIL

Medio deshidratado: 4 años.

Medio en botellas: 2 años.

Placas preparadas: 6 meses.

CONTROL DE CALIDAD

Las placas se inoculan con las cepas indicadas en la siguiente tabla.

Inóculo para productividad: 50-100 CFU.

Inóculo para selectividad: 10⁴-10⁶ CFU.

Condiciones de incubación: aeróbicas a 35 ± 2°C durante 18-24 horas.

18-72 h a 30-35°C para *E. coli* (según Farmacopea).

Tabla CC

Microorganismo		Crecimiento	Apariencia
<i>Salmonella Typhimurium</i>	ATCC® 14028	Bueno	Colonias incoloras
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC® 12022	Bueno	Colonias incoloras
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Bueno	Colonias incoloras
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Bueno	Colonias rosáceas con precipitado de bilis
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	Bueno	Colonias rosáceas
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Inhibición parcial o completa	Colonias pequeñas opacas
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Inhibición	---

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto no contiene sustancias peligrosas en concentraciones que excedan los límites fijados por la legislación actual y no está clasificado como peligroso. Se recomienda de todas formas la lectura de la hoja de seguridad para el uso apropiado. El producto está pensado para un uso exclusivo de diagnóstico in vitro y debe ser utilizado sólo por operadores debidamente adiestrados.

DESECHO DE RESÍDUOS

El desecho de los residuos debe realizarse según la regulación nacional y local vigente.








BIBLIOGRAFÍA

- European Pharmacopoeia 6.5 (2009). 2.6.13 Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009). <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008). Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- Murray, Baron, Jorgensen, Landry and Pfaller ed. (2007) Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- MacConkey A. (1905) Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hygiene 8:333-379.

PRESENTACIÓN

		Contenido	Ref.
MacConkey Agar	Placas de 90 mm listas para su uso	20 placas	10029
MacConkey Agar	Placas de 90 mm listas para su uso	100 placas	10029*
MacConkey Agar	Botellas	6 x 500 ml botellas	470090
MacConkey Agar	Botellas	6 x 200 ml botellas	412240
MacConkey Agar	Botellas	6 x 100 ml botellas	402240
MacConkey Agar	Medio deshidratado	500 g de polvo deshidratado	610028
MacConkey Agar	Medio deshidratado	100 g de polvo deshidratado	620028
MacConkey Agar	Medio deshidratado	5 kg de polvo deshidratado	6100285

TABLA DE SÍMBOLOS

LOT Código de lote	IVD Sistema medico para el Diagnóstico <i>In vitro</i>	 Fabricante	 Utilizar antes de	 Frágil, manipular con cuidado
REF Número de catálogo	 Límites de temperatura	 Contenido suficiente para <n> análisis	 Atención, consultar el documento adjunto	 No reutilizar



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

