

MAC CONKEY AGAR

Terreno selettivo e differenziale in polvere, pronto all'uso in piastra e flacone per l'isolamento e la differenziazione degli enterobatteri.

Terreno indicato per l'esame microbiologico di prodotti non sterili con metodi armonizzati EP, USP, JP.



Mac Conkey Agar: colonie di *E.coli* (rosse con alone) e di *Pseudomonas aeruginosa* (verdi)

FORMULA TIPICA (g/L)

Peptone di gelatina	17.000
Peptoni (carne e caseina)	3.000
Lattosio monoidrato	10.000
Sali biliari n. 3	1.500
Sodio cloruro	5.000
Rosso neutro	0.030
Violetto cristallo	0.001
Agar	13.500

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 50 g di polvere in 1000 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Lasciare asciugare bene la superficie del terreno in piastra prima della semina. pH finale 7.1 ± 0.2

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN FLACONE

Scaldare in bagnomaria a 100°C portando ad ebollizione il terreno in flacone agitando di tanto in tanto. Raffreddare a circa 50°C e trasferire in piastre Petri sterili. pH finale 7.1 ± 0.2 .

DESCRIZIONE

Mac Conkey Agar è un terreno selettivo e differenziale da usarsi in piastra per l'isolamento degli enterobatteri e per la differenziazione dei coliformi dagli enterobatteri patogeni non fermentanti il lattosio. Mac Conkey Agar è suggerito da APHA e FDA nell'isolamento di *E. coli* enteropatogeni negli alimenti. Mac Conkey Agar è indicato per la ricerca di *E. coli* nei prodotti non sterili con metodo armonizzato EP, USP, JP ed è conforme alle specifiche qualitative ivi riportate.

Mac Conkey Agar è impiegato per la determinazione dei batteri Gram negativi nelle urine in piastra e su "Dip Slide" accoppiato al Cled Agar. Il terreno originale di Mac Conkey è stato modificato nell'attuale preparazione, diminuendo il contenuto d'agar, aggiungendo 5 g/litro di sodio cloruro e variando le concentrazioni dei sali biliari e del rosso neutro. Le modificazioni attuate consentono una eccellente crescita della maggior parte delle specie di *Salmonella* e *Shigella* e permettono una migliore differenziazione di questi patogeni dai microrganismi appartenenti al gruppo dei coliformi.

L'azione selettiva del Mac Conkey Agar è dovuta alla presenza dei sali biliari n. 3 che inibiscono la crescita dei batteri Gram positivi; l'attività inibitoria è potenziata dall'aggiunta di cristal violetto.

La fermentazione del lattosio da parte dei coliformi provoca una acidificazione del mezzo ed una conseguente precipitazione dei sali biliari con assorbimento del rosso neutro. I coliformi coltivano quindi con colonie rosso-viola circondate da un alone di precipitazione, i microrganismi lattosio non fermentanti coltivano con colonie prive di colore. La sciamaatura dei protei è controllata su Mac Conkey Agar grazie all'impiego di peptoni rigorosamente selezionati e di sali biliari estremamente purificati che agiscono da inibitori di tale fenomeno.

IMPIEGO

Per l'uso trasferire circa 20 mL di terreno in piastre Petri sterili aventi un diametro di 9 cm. Lasciare asciugare il terreno con il coperchio della piastra rimosso per metà; è importante che la superficie del terreno sia ben asciutta prima dell'uso. Inoculare le piastre strisciando sulla superficie del terreno il materiale in esame, incubare a 37°C e osservare le colonie dopo 16-18 ore. Un tempo di incubazione più prolungato altera le caratteristiche culturali dei microrganismi.

Per l'isolamento e la determinazione degli enterobatteri patogeni, si raccomanda di utilizzare il Mac Conkey Agar congiuntamente ad altri terreni più selettivi quali l'SS Agar ed il Bismuth Sulphite Agar.

Trepeta ed Edberg suggeriscono, nell'esame delle urine, l'aggiunta al Mac Conkey Agar di 4-metilumbelliferil- β -D-glucuronide (MUG) per l'identificazione già sulla piastra d'isolamento di *E. coli*.

Per la determinazione di *E. coli* nei prodotti farmaceutici non sterili operare come segue.

- Preparare una diluizione 1:10 del campione usando non meno di 1 g o 1 mL di prodotto da esaminare. Con 10 mL di tale diluizione o la quantità corrispondente a 1 g o 1 mL inoculare un volume adeguato di Tryptic Soy Broth. Mescolare ed incubare a 30-35°C per 18-24 ore.
- Mescolare la coltura e trasferirne 1 mL in 100 mL di Mac Conkey Broth EP (REF 401679) ed incubare a 42-44°C per 24-48 ore.
- Trapiantare dalla brodocoltura in Mac Conkey Broth EP su piastre di Mac Conkey Agar ed incubare a 30-35°C per 18-72 ore.
- La possibile presenza di *E. coli* è indicata dalla crescita su piastra di colonie. Il risultato colturale deve essere confermato con test d'identificazione.
- La prova è da considerarsi negativa se sulla piastra non vi è presenza di colonie o se i test d'identificazione risultassero negativi.

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo produttività:

E. coli ATCC 25922*: crescita con colonie rosa circondate da un alone opaco rosa;

P. mirabilis ATCC 12453*: crescita con colonie incolori non sciamate

S. typhimurium ATCC 14028*: crescita con colonie incolori

Controllo selettività:

E. faecalis ATCC 29212*: inibito

Incubazione: 18-24 h a 35°C - *Ceppi raccomandati da NCCLS M22-A3

Per il controllo di qualità nel settore farmaceutico fare riferimento alla Farmacopea Europea edizione corrente.

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni Mac Conkey Agar è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.) Conservare le piastre preparate in laboratorio per un massimo di 15 giorni a 2-8°C

Terreno pronto all'uso in flacone ed in piastra: conservare a 2-8°C al riparo della luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreno in polvere: Mac Conkey Agar non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente ma contiene sali biliari (classificabili come Xi irritanti) ad una concentrazione >1% e come tale richiede la scheda di sicurezza, che deve essere consultata prima dell'uso. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione del Mac Conkey Agar deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

Terreno pronto all'uso in flacone ed in piastra : i preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$.

I preparati qui descritti sono solo per uso diagnostico *in vitro* e devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

• FDA (1995) Bacteriological Analytical Manual, 8th ed. Revision A, 1998. Published by AOAC International.

• CLSI document M22-A3, 2004. Quality Control of Commercially Prepared Microbiological Media: Approved Standard - Third Edition. Vol. 24 No.19

CONFEZIONI

4016702 **Mac Conkey Agar,** 500 g (9.6 L)

4016704 **Mac Conkey Agar,** 5 kg (96 L)

Il terreno è disponibile anche in piastre pronte ed in flacone:

541670 **Mac Conkey Agar,** 20 piastre diametro 90 mm

5116702 **Mac Conkey Agar,** 6 flaconi da 100 mL

5116703

Mac Conkey Agar,

6 flaconi da 200 mL

