



MAC CONKEY AGAR

Paruošti naudoti plokštelės



Mac Conkey agaras: *E. coli* (kolonijos su raudonu apvadu) ir *Pseudomonas aeruginosa* (žalsvos)

1-PASKIRTIS

In vitro diagnostikos prietaisas. Selektivi ir diferencinė terpė *Enterobacteriaceae* ir kitų Gram neigiamų bacilų izoliavimui ir diferencijavimui iš klinikinių ir neklintinių mėginių.

2-SUDĖTIS – TIPINĖ FORMULĖ *

Gelatin peptone	17.000 g
Peptones (meat and casein)	3.000 g
Lactose	10.000 g
Bile salts n°3	1.500 g
Sodium chloride	5.000 g
Neutral red	0.030 g
Crystal violet	0.001 g
Agar	13.500 g
Purified water	1000 mL

*formulė gali būti koreguojama ir (arba) papildoma, kad atitiktų reikiamus veikimo kriterijus.

3. METODO PRINCIPAS IR PROCEDŪROS PAAIŠKINIMAS

Mac Conkey agaras yra selektivi, diferencinė terpė, pagrįsta 1900 m: Alfred Theodore MacConkey aprašyta formulė¹ ir vėliau 1902 m. Albert Grunbaum ir Edward Hume modifikuota² įtraukiant neutralų raudoną ir kristalinį violetinį.

Iki 1930 m. mikrobiologinių terpių kompendiume buvo paskelbti dešimt „MacConkey bazinio tulžies druskos peptonato“ agarų modifikavimų, tačiau iš visų jų tik Grunbaum ir Hume formulė išlaikė laiko išbandymą ir (su nedideliais pakeitimais) yra šiuolaikinio MacConkey agarų pagrindas; Praėjus 120 metų, MacConkey agaras tebėra plačiai naudojamas klinikinėse ir pramoninėse laboratorijose, kur jis yra nuolat naudojamas nepretenzingiems gramneigiamiesiems organizmams aptikti įvairiuose žmogaus mėginiuose ir neklintiniuose medžiagose.⁽³⁾

Mac Conkey agaras skirtas *Enterobacteriaceae* ir kitų Gram neigiamų bacilų izoliavimui bei laktozę fermentuojančių ir nefermentuojančių Gram neigiamų žarnyno bacilų atskyrimui. Mac Conkey agaras naudojamas žmogaus klinikinių mėginių mikrobiologiniam tyrimui^(5,6) yra įtrauktas į FDA-BAM⁽⁷⁾ dėl pirminio enteropatogeninių *E. coli* izoliavimo maisto produktuose, atitinka suderintas EP, USP, JP specifikacijas⁽⁸⁾ dėl *E. coli* aptikimo nesteriliuose farmacijos produktuose ir yra rekomenduojamas ISO 21150 dėl *E. coli* aptikimo kosmetikos produktuose⁽⁹⁾.

Originalus MacConkey terpė buvo modifikuota šiame preparate: agaras yra mažesnis, pridėta 5 g/L natrio chlorido, pakeista tulžies druskų ir neutralaus raudonojo dažo koncentracija.⁴ Šios modifikacijos užtikrina puikų daugumos *Salmonella* ir *Shigella* štamų augimą ir leidžia geriau atskirti šiuos patogenus nuo koliforminių bakterijų. Mac Conkey agarų selektyvus poveikis yra dėl tulžies druskų Nr. 3, kurios slopina gramteigiamų bakterijų augimą; šis slopinamasis poveikis sustiprinamas pridėjus kristalinio violeto. Peptonai teikia anglį, azotą ir mikroelementus bakterijų augimui; natrio chloridas palaiko osmosinę pusiausvyrą. Koliforminių bakterijų laktozės fermentacija sukelia terpės rūgštėjimą, dėl kurio iškristalizuojasi tulžies druskos ir absorbuojamas neutralus raudonas dažas.⁴ Koliforminės bakterijos auga raudonai rožinėmis iki raudonai violetinėmis kolonijomis, apsuptomis raudona nusėdimo zona. Laktozės nefermentuojančios bakterijų rūšys (pvz., *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Alkaligenes* ir kt.) sudaro skaidrias, bespalves kolonijas be nusėdimo zonos. *Proteus* spp. kolonijų susidarymas Mac Conkey agare yra iš dalies kontroliuojamas naudojant atrinktas žaliavas.

4. FIZINĖS SAVYBĖS

Terpės išvaizda raudonai violetinė, skaidri arba šiek tiek opalio spalvos
Galutinis pH 25 °C temperatūroje 7.1 ± 0.2

5-PATEIKTOS MEDŽIAGOS

Produktas	Tipas	REF	Pakuotė
Mac Conkey agar	Paruošti naudoti plokštelės	541670	2 x 10 plokštelių Ø 90 mm pirminė pakuotė: 2 celofano maišeliai antrinė pakuotė: kartoninė dėžutė

6-REIKALINGOS, BET NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS

Sterilus kilpos ir tamponai, inkubatorius ir laboratorinė įranga pagal poreikį, pagalbinės auginimo terpės ir reagentai kolonijų identifikavimui.

7-MĖGINIAI

Mac Conkey agaras skirtas kelių žmogaus klinikinių mėginių su mišria flora (pvz., šlapimo, išmatų, kvėpavimo takų, žaizdų ir pūlinių medžiagų ir kt.)^{5,6} ir neklintinių mėginių, pvz., maisto produktų, nesterilių farmacijos produktų, kosmetikos priemonių^{7,8,9}, bakteriologiniam tyrimui. Jei įmanoma, mėginius surinkite prieš pradėdami antimikrobinį gydymą. Mėginių surinkimui, laikymui ir transportavimui į laboratoriją turėtų būti taikomos geros laboratorinės praktikos.

8 BANDYMŲ PROCEDŪRA

Leiskite plokštelėms pasiekti kambario temperatūrą ir išdžiūti terpės paviršiumi. Inokuliuokite ir ištepkite mėginį kilpa per keturis plokštelės ketvirčius, kad gautumėte gerai izoliuotas kolonijas, užtikrindami, kad 1 ir 4 sekcijos nesutaptų. Alternatyviai, jei medžiaga yra kultivuojama tiesiogiai iš tampono, perbraukite tamponu per nedidelį paviršiaus plotą krašte; tada ištepkite iš šio inokuliuoto ploto.

Inkuatuokite aerobinėje aplinkoje 35–37 °C temperatūroje 18–24 valandas arba ilgiau, jei reikia (vėlavai laktozę fermentuojantiems mikroorganizmams: *Citrobacter*, *Providencia*, *Serratia*, *Hafnia* – galbūt iki 48 valandų).⁴





E. coli bakterijoms nustatyti nesteriliuose farmacijos produktuose reikėtų laikytis Europos farmakopėjos⁹ rekomenduojamos ir toliau apibendrintos metodikos:

- Paruoškite mėginį, naudodami ne mažiau kaip 1 g tiriamo produkto, praskiesto 1:10, ir 10 mL arba 1 g arba 1 mL atitinkantį kiekį, kad įterptumėte tinkamą kiekį triptiko sojos sultinio. Sumaišykite ir inkubuokite 30–35 °C temperatūroje 18–24 val.
 - Pratrinkite indą, perpilkite 1 mL triptiko sojos sultinio į 100 mL Mac Conkey sultinio EP ir inkubuokite 42–44 °C temperatūroje 24–48 val.
 - Perkelkite į Mac Conkey agar plokštelę ir inkubuokite 30–35 °C temperatūroje 18–72 val.
- Kolonijų augimas rodo galimą *E. coli* buvimą. Tai patvirtinama identifikavimo testais.

9. SKAITYMAS IR INTERPRETAVIMAS

Po inkubacijos stebėkite bakterijų augimą ir užrašykite specifines kolonijų morfologines ir chromatinės savybes.

Laktozės fermentatorių kolonijos yra raudonai rožinės iki raudonai violetinės spalvos ir gali būti apsuptos raudonų nusėdusių tulžies zonų. Kolonijos, kurios nefermentuoja laktozės, yra bespalvės, baltos arba šviesiai geltonos arba su natūralia pigmentacija (pvz., žalios *P. aeruginosa*).

10-VARTOTOJO KOKYBĖS KONTROLĖ

Visos pagamintos produkto partijos yra išleidžiamos į pardavimą po to, kai atlikta kokybės kontrolė, siekiant patikrinti atitiktį specifikacijoms. Tačiau galutinis vartotojas gali atlikti savo kokybės kontrolę pagal vietos galiojančius reglamentus, laikydamasis akreditacijos reikalavimų ir laboratorijos patirties. Toliau pateikiamos kelios bandymų padermės, naudingos kokybės kontrolei.¹⁰

KONTROLINIAI ŠTAMAI	INKUBACIJA T° / T / ATM	TIKĖTINI REZULTATAI
<i>E.coli</i> ATCC 8739	35–37 °C / 18–24 val. / A	raudonai violetinės kolonijos su raudonu nepermatomu apvadu
<i>P.mirabilis</i> ATCC 12453	35–37 °C / 18–24 val. / A	nesibūria bespalvės kolonijos
<i>S.Typhimurium</i> ATCC 14028	35–37 °C / 18–24 val. / A	bespalvės kolonijos
<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	35–37 °C / 18–24 val. / A	slopintos

A: aerobinė inkubacija; ATCC yra American Type Culture Collection prekės ženklas

11-VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

Prieš pateikiant į rinką, visų paruoštų naudoti Mac Conkey agar plokščių ir žaliavų, naudojamų paruoštų plokščių gamybai (dehidratuotas Mac Conkey agar REF 401670), reprezentatyvus mėginys yra tikrinamas dėl produktyvumo ir selektyvumo, lyginant rezultatus su anksčiau patvirtintu etaloniniu partijos (RB) mėginiu.

Produktyvumas tikrinamas kiekybiniu bandymu su tiksline *E.coli* ATCC 8739 bakterijų rūšimi; Mac Conkey agar plokštelės inokuliuojamos dešimtainiais kolonijų suspensijos tirpalais fiziologiniame tirpale ir inkubuojamos 35–37 °C temperatūroje 18–24 valandas. Kolonijos suskaičiuojamos bandymo partijoje (TB) ir etaloninėje partijoje (RB) ir apskaičiuojamas produktyvumo santykis ($Pr=UFC_{(TB)} / UFC_{(RB)}$). Jei Pr yra ≥ 0.7 ir jei kolonijų morfologija ir spalva yra tipinės (raudonai rožinės iki raudonai violetinės kolonijos su raudonu nepermatomu apvadu), rezultatai laikomi priimtinais ir atitinkančiais specifikacijas. Be to, produktyvumo charakteristikos tiriamos pusiau kiekybiniu ekometrinės technikos metodu su šiais laktozę fermentuojančiais štamais: *E.coli* ATCC 25922, *E.aerogenes* ATCC 13048, *K.pneumoniae* ATCC 27736 ir laktozę nefermentuojančiais štamais: *S.Typhimurium* ATCC 14028, *S.flexneri* ATCC 12022, *P.mirabilis* ATCC 12453, *P.vulgaris* ATCC 6380, *Y.enterocolitica* ATCC 23715, *P.aeruginosa* ATCC 9027. Tipinės laktozės fermentatorių kolonijos yra rausvai raudonos iki raudonai violetinės spalvos su nuosėdų zonomis arba be jų; tipinės laktozės nefermentatorių kolonijos yra bespalvės arba žalios *P.aeruginosa* atveju. Po inkubacijos įvertinamas augimo kiekis ant plokščių ir jis turi būti panašus abiejose partijose.

Selektyvumas vertinamas modifikuotu Miles-Misra paviršiaus lašų metodu, įterpiant į lėkšteles dešimtainius skiedinius fiziologiniame tirpale nuo 10^{-1} iki 10^{-4} 0.5 McFarland suspensijos netikslinės Gram teigiama padermės *E.faecalis* ATCC 29212. Jei netikslinės rūšies augimas yra slopinamas $10^{(-1)}$ tirpalu abiejose partijose, rezultatai laikomi priimtinais ir atitinkančiais specifikacijas.

Tikslumas buvo vertinamas peržiūrint kokybės kontrolės duomenis. Buvo įvertinti 51 partijos, pagamintos nuo 2019 m. sausio 1 d. iki 2020 m. gegužės 25 d., rezultatai. 100 % partijų atitiko nustatytus priimtino kriterijus produktyvumo ir diferencinių savybių atžvilgiu su tikslinėmis padermėmis ir selektyvumo atžvilgiu su netikslinėmis padermėmis.

12. METODO APRIBOJIMAI

- Ilgas inkubavimas gali sukelti rezultatų painiavą; inkubuokite ne ilgiau kaip 48 valandas.⁴
- Dėl selektyvių šio terpės savybių kai kurios Gram neigiamų enterobakterijų padermės neauga arba auga prastai; panašiai kai kurie Gram teigiami organizmai gali būti neslopunami arba slopinami tik iš dalies.⁴
- Kai kurios enterokokų rūšys po ilgos inkubacijos gali augti.⁴
- Mac Conkey agaras nėra tinkama terpė koliforminių organizmų aptikimui ir skaičiavimui maisto produktuose. Vienas iš patikimiausių metodų yra violetinio raudonojo tulžies agaro naudojimas plokštelės skaičiavimui.¹¹
- Šis prietaisas nėra skirtas infekcijoms diagnozuoti ar antimikrobinio gydymo rekomendacijoms teikti. Jis naudojamas diagnostinių tyrimų komplekte, siekiant gauti mikrobu kolonijas, izoliuotas iš klinikinių mėginių, paimtų iš pacientų, kuriems įtariama bakterinė infekcija. Norint visiškai identifikuoti kolonijas ir nustatyti jų epidemiologinį tipą, reikia atlikti atitinkamus tyrimus; jei reikia, atlikite antimikrobinio jautrumo tyrimus, naudodami rekomenduojamus metodus.
- Augimas terpėje priklauso nuo kiekvieno mikroorganizmo metabolizmo poreikių ir atsparumo esamiems antimikrobinėms medžiagoms; kai kurios tikslinės padermės gali neaugti arba augti lėčiau. Augimo nebuvimas arba tipinių kolonijų nebuvimas nereiškia, kad mėginyje nėra gramneigiamų bacilų. Todėl rekomenduojama kartu naudoti kitas auginimo terpes, kad būtų galima išskirti patogenus mėginyje.

13 – ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

- Šis produktas yra kokybinis in vitro diagnostikos prietaisas, skirtas tik profesionaliam naudojimui, nėra automatizuotas ir nėra papildoma diagnostikos priemonė. Jį turi naudoti tinkamai apmokyti ir kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai, laikydamiesi biologinio pavojaus prevencijos priemonių ir aseptikos reikalavimų.
- Pagal galiojančius Europos Sąjungos teisės aktus šis produktas nėra klasifikuojamas kaip pavojingas.
- Ši auginimo terpė yra gyvūninės kilmės žaliavų. Todėl rekomenduojama naudoti paruoštas plokšteles kaip potencialiai užkrečiamas ir elgtis su jomis laikantis įprastų specialių atsargumo priemonių: nevertoti, neįkvėpti, neleisti liestis su oda, akimis, gleivinėmis. Atsisiųskite TSE pareiškimą iš svetainės www.biolifeitaliana.it, kuriame aprašomos priemonės, taikomos siekiant sumažinti su užkrečiamomis gyvūnų ligomis susijusią riziką. Visi laboratoriniai mėginiai turėtų būti laikomi infekciniais.
- Laboratorijos patalpos turi būti kontroliuojamos, kad būtų išvengta užteršimo, pvz., kultūrinės terpės ar mikrobu.





- Kiekviena šio auginimo terpės plokštelė skirta vienkartiniam naudojimui.
- Paruošti naudoti indai neturi būti laikomi „steriliais produktais“, nes jie nėra galutinai sterilizuojami, bet yra produktai su kontroliuojama biologine tarša, neviršijant nustatyta specifikacijų, nurodytų kokybės kontrolės sertifikate.
- Prieš išmesdami sterilizuokite visas biologinio pavojaus atliekas ir išmeskite nenaudotą terpę bei sterilizuotas lėkšteles, į kurias buvo įterpti mėginiai ar mikrobu štamai, laikydamiesi galiojančių vietos teisės aktų.
- Produkto analizės sertifikatai ir saugos duomenų lapas yra prieinami interneto svetainėje www.biolifeitaliana.it.
- Apie bet kokį rimtą incidentą, susijusį su *in vitro* diagnostikos priemonių naudojimui, praneškite „Biolife Italiana Srl“ (complaint@biolifeitaliana.it) ir atitinkamoms institucijoms.
- Šiame dokumente pateikta informacija buvo parengta pagal mūsų žinias ir gebėjimus ir yra gairės, kaip tinkamai naudoti produktą, tačiau be jokios prievolės ar atsakomybės. Visais atvejais turi būti laikomasi galiojančių vietos įstatymų, reglamentų ir standartinių procedūrų, taikomų žmogaus ir gyvūnų organinių atliekų, aplinkos mėginių ir žmonėms ar gyvūnams vartoti skirtų produktų tyrimams. Mūsų informacija neatleidžia mūsų klientų nuo atsakomybės patikrinti, ar mūsų produktas tinka numatytam tikslui.
- Gamintojas neatsako už jokių nuostolių ar žalą, kurie koku nors būdu atsiranda dėl produkto naudojimo nesilaikant pateiktų instrukcijų arba yra su tuo susiję.

14 – LAIKYMO SĄLYGOS IR GALIOJIMO LAIKAS

Gavus plokšteles, jas reikia laikyti originalioje pakuotėje 2–8 °C temperatūroje, apsaugant nuo tiesioginių saulės spindulių. Tinkamai laikomos plokštelės gali būti naudojamos iki galiojimo pabaigos datos. Po šios datos plokštelių naudoti negalima. Atidarytame plastikiniame maišelyje esančias plokšteles galima naudoti 7 dienas, jei jos laikomos švarioje vietoje 2–8 °C temperatūroje. Plokštelių naudoti negalima, jei plastikinis maišelis yra pažeistas arba indas sudaužytas.

Nenaudokite plokštelių, kuriose yra gedimo požymių (pvz., mikrobu užteršimas, dehidratacija, terpės susitraukimas ar įtrūkimai, netipinė spalva, drėgmės perteklius).

15 – NUORODOS

1. MacConkey AT. Note on a new medium for the growth and differentiation of the Bacillus coli communis and the Bacillus Typhi abdominalis. The Lancet, July 07, 1900; vol 156, Issue 4010, P20.
2. Grunbaum AS, Hume EH. Note on media for distinguishing B.coli, B.typhosus and related species. Brit Med J, June 14 1902; p 1473-1474
3. Smith KP, The origin of MacConkey Agar. American Society for Microbiology: Articles, Oct. 14, 2019.
4. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
5. McElvania E, Singh K. Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
6. Vandepitte J, Verhaegen J, P. Rohner P, Piot P, Heuck CC. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. 2nd edition Geneva: World Health Organization Geneva; 2003.
7. U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Bacteriological Analytical Manual Chapter 4A Diarrheagenic *Escherichia coli*. Content current as of:11/03/2017
8. European Pharmacopoeia, current edition.
9. ISO 21150:2015. Cosmetics- Microbiology -Detection of *Escherichia coli*.
10. CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004
11. Harrigan WF., McCance ME. The Microbiological examination of foods. in Laboratory Methods in Microbiology, Elsevier B.V. 1966.

TAIKOMŲ SIMBOLIŲ LENTELĖ

REF Katalogo numeris	arba REF	LOT Partijos kodas	IVD <i>In vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisai	Gamintojas	Naudojimo terminas
Temperatūros ribos	Turinio pakanka <n> tyrimams	Žiūrėkite naudojimo instrukcijas	Tik vienkartinia	Trapus, tvarkykite atsargiai	

REDAGAVIMO ISTORIJA

Versija	Pakeitimų aprašymas	Data
Naudojimo instrukcijos (IFU) – 2 redakcija	Atnaujintas išdėstymas ir turinys pagal IVDR 2017/746	2020/05
Naudojimo instrukcijos (IFU) – 3 redakcija	Pasenusios klasifikacijos pašalinimas	2023/03
Naudojimo instrukcijos (IFU) – 4 redakcija	Veikimo charakteristikos, metodo apribojimai, atsargumo priemonės ir įspėjimai, taikytinų simbolių lentelė.	2025/10

Pastaba: nedideli tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakitimai nėra įtraukti į peržiūrų istoriją.

