



MAC CONKEY AGAR N° 2

Terreno di coltura in polvere



Mac Conkey Agar n° 2: colonie di *E. coli*

1 – DESTINAZIONE D'USO

Per il riconoscimento degli enterococchi in presenza di coliformi e lattosio non-fermentanti in campioni di acqua, acque reflue e prodotti alimentari.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA *

Peptone	20,00 g
Lattosio	10,00 g
Sali biliari	1,50 g
Sodio cloruro	5,00 g
Rosso neutro	0,05 g
Violetto cristallo	0,001 g
Agar	15,00 g

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Alfred Theodore MacConkey, lavorando all'Università di Liverpool sotto gli auspici della Royal Commission on Sewage Disposal, nel 1900¹ pubblicò su Lancet la formulazione del MacConkey Agar. L'uso del terreno di coltura si diffuse rapidamente tra gli interessati alla microbiologia dell'acqua. Più tardi, nel 1902, Albert Grunbaum ed Edward Hume² modificarono la formulazione di MacConkey con l'inclusione di rosso neutro e cristalvioletto e, nel 1930, furono pubblicate dieci modifiche dell'agar "MacConkey's Basal Bile Salt Peptone"³.

Il Mac Conkey Agar n° 2, rispetto alla formula classica del Mac Conkey Agar (REF 401670), include i sali biliari meno selettivi al posto dei sali biliari n° 3, che inibiscono parzialmente la crescita di alcuni batteri Gram-positivi; questa attività inibitoria è potenziata dall'inclusione del cristalvioletto che non interferisce con la crescita degli enterococchi. Il peptone fornisce carbonio, azoto e oligoelementi per la crescita batterica; il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico. La fermentazione del lattosio da parte di coliformi ed enterococchi provoca l'acidificazione del terreno e la formazione di colonie di colore rosso-rosa o rosso-violetto. I ceppi che non fermentano il lattosio (ad esempio *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Alkaligenes* ecc.) sviluppano colonie trasparenti e incolori. Gli enterococchi producono piccole colonie rosse, mentre gli stafilococchi e gli streptococchi non fecali sono inibiti.

Mac Conkey Agar n° 2 è utilizzato per il riconoscimento degli enterococchi in presenza di coliformi e lattosio non-fermentanti provenienti da acqua, acque reflue e prodotti alimentari.

4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 51,5 g in 1000 mL di acqua fredda purificata. Riscaldare fino a ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C, mescolare bene e versare in piastre Petri sterili.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, rosata
Aspetto della soluzione	rosso-arancio, limpido o leggermente opalescente
pH finale (20-25 °C)	7,2 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Mac Conkey Agar n° 2	Terreno di coltura in polvere	4016732	500 g (9,7 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio come richiesto, beute, piastre di Petri sterili, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Alimenti e acque. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, attenersi alle norme di buona pratica di laboratorio e fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Lasciare che le piastre arrivino a temperatura ambiente e che la superficie del terreno di coltura si asciughi.

Inoculare e strisciare il campione con un'ansa sui quattro quadranti della piastra per ottenere colonie ben isolate, assicurandosi che le sezioni 1 e 4 non si sovrappongano.

Incubare in atmosfera aerobica a 35-37°C per 18-24 ore o più a lungo se necessario (forse fino a 48 ore per i fermenti lattici tardivi: *Citrobacter*, *Providencia*, *Serratia*, *Hafnia*).⁴

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche specifiche delle colonie. Gli enterococchi producono piccole colonie rosse.

Le colonie di coliformi sono di colore rosso-rosa o rosso-violetto.

Le colonie dei fermenti non lattici sono incolori o bianche o giallo chiaro o con una pigmentazione naturale (ad esempio, verde per *P.aeruginosa*).





Gli stafilococchi sono totalmente inibiti.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti del prodotto vengono messi in vendita dopo l'esecuzione dei test del Controllo Qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità alle normative locali applicabili, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono riportati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità del terreno di coltura.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37°C / 18-24 h / A	colonie rosso-viola
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	35-37°C / 18-24 h / A	colonie incolori
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	35-37°C / 18-24 h / A	colonie piccole, rosse
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	35-37°C / 18-24 h / A	inibito

A: incubazione aerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Mac Conkey Agar N°2 disidratato viene sottoposto a test di produttività e selettività, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Le caratteristiche di produttività sono testate mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con ceppi Gram-negativi che fermentano il lattosio (*E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 27736), ceppi Gram negativi non fermentanti il lattosio (*S. Typhimurium* ATCC 14028, *P. mirabilis* ATCC 10005) ed enterococchi (*E. faecalis* ATCC 19433, *E. faecium* ATCC 19434, *E. gallinarum* ATCC 70042). Dopo l'incubazione a 37°C per 24 ore, le colonie tipiche dei coliformi hanno un colore che va dal rosa-rosso al viola; le colonie tipiche degli enterococchi sono piccole e di colore rosso; le colonie tipiche dei non fermentanti il lattosio sono incolori. La quantità di crescita sulle piastre dopo l'incubazione viene valutata e deve essere comparabile in entrambi i lotti.

La selettività viene valutata con il metodo Miles-Misra modificato, inoculando le piastre con gocce di opportune diluizioni decimali in soluzione fisiologica di una sospensione 0,5 McFarland dei ceppi Gram-positivi *S. aureus* ATCC 25923 e *S. mitis* ATCC 9811. La crescita dei ceppi non target è totalmente inibita.

13-LIMITI DEL METODO

- Un'incubazione prolungata può confondere i risultati; non incubare per più di 48 ore.⁴
- A causa delle proprietà selettive di questo terreno, alcuni ceppi di batteri enterici Gram-negativi non crescono o crescono male; allo stesso modo, alcuni organismi Gram-positivi possono non essere inibiti o esserlo parzialmente.⁴
- Anche se le colonie microbiche sulle piastre si differenziano in base alle loro caratteristiche morfologiche e cromatiche, si raccomanda di eseguire test biochimici, immunologici, molecolari o di spettrometria di massa sugli isolati, a partire da colture pure, per una completa identificazione.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico ed è per uso professionale; deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- I terreni disidratati devono essere maneggiati con adeguate protezioni. Prima dell'uso, consultare le schede di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Applicare le Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura preparati.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura, i supplementi ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni ed i supplementi non utilizzati ed i terreni inoculati con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e le Schede di Sicurezza sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego dei prodotti, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido sino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (es. modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della validazione della loro shelf life, in funzione della tipologia e condizioni di conservazione applicate (temperatura e confezionamento).

Secondo MacFaddin, il terreno di coltura preparato dall'utente può essere conservato a +2°C/+8°C al buio e al riparo dall'evaporazione per un massimo di 6-8 settimane.⁴










16 - BIBLIOGRAFIA

- 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.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	03/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

