



MAC CONKEY BROTH (EP)

Terreno di coltura in polvere e pronto all'uso in flacone

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno liquido per la rilevazione di *Escherichia coli* in prodotti farmaceutici non sterili, secondo il metodo armonizzato EP e di organismi coliformi in alimenti e campioni d'acqua.

2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA *

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

Idrolizzato pancreatico di gelatina	20,00 g
Lattosio monoidrato	10,00 g
Bile di bue	5,00 g
Porpora di bromocresolo	0,01 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Alfred Theodore MacConkey¹ nel 1901 ideò un terreno liquido per la coltivazione del "*Bacillus coli*", contenente taurocolato di sodio come agente selettivo e tornasole come indicatore. Il terreno fu successivamente modificato da MacConkey^{2,3} sostituendo il tornasole con il rosso fenolo e da Childs e Allen⁴ che introdussero il porpora di bromocresolo, meno inibitorio, come indicatore di pH.

Mac Conkey Broth EP, nella sua formulazione attuale, è conforme alle raccomandazioni del metodo armonizzato della Farmacopea Europea.⁵

MacConkey Broth è utilizzato per la coltivazione di bacilli Gram-negativi, lattosio-fermentanti, come test presuntivo per gli organismi coliformi e per la rilevazione di *E. coli* in prodotti farmaceutici non sterili.

I fattori di crescita essenziali sono forniti dall'idrolizzato pancreatico di gelatina, fonte di azoto, carbonio e minerali. Il lattosio è un carboidrato fermentabile e una fonte di carbonio ed energia. Il porpora di bromocresolo è l'indicatore di pH. La bile di bue inibisce la crescita di organismi Gram-positivi. Rispetto alla formula classica, Mac Conkey Broth EP non contiene cloruro di sodio.

Acidi e gas sono prodotti dalla fermentazione del lattosio: l'acidità del terreno di coltura è rilevata dall'indicatore di pH, che diventa giallo, mentre il gas è evidenziato dalla formazione di bolle che vengono raccolte in provette Durham.

4A – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 35 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Mescolare accuratamente e riscaldare leggermente se necessario per sciogliere completamente la polvere. Distribuire 10 mL in provette contenenti un tubo Durham rovesciato o 100 mL in un flacone e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Le provette Durham non devono contenere bolle d'aria dopo la sterilizzazione.

4B – TERRENO IN FLACONE

Il terreno in flacone è pronto all'uso

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, biancastra.
Aspetto della soluzione	viola, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,3 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Mac Conkey Broth (EP)	Terreno di coltura in polvere	4016792	500 g (14,3 L)
Mac Conkey Broth (EP)	Flaconi pronti all'uso	5116792	6 x 100 mL

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, beute, provette, provette di Durham, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Prodotti farmaceutici non sterili, alimenti e campioni di acqua. Fare riferimento agli standard e alle normative internazionali applicabili per la raccolta dei campioni. Operare in conformità alle buone pratiche di laboratorio per la raccolta, la conservazione e il trasporto dei campioni in laboratorio.

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Per l'individuazione di *E. coli* in prodotti farmaceutici non sterili si deve seguire la tecnica raccomandata dalla Farmacopea Europea.⁵ Preparare un campione con una diluizione 1 a 10 in Farmacopeia Diluent (REF 401395) di almeno 1 g del prodotto da esaminare. Utilizzare 10 mL o la quantità corrispondente a 1 g o 1 mL di campione per inoculare la quantità adeguata di Tryptic Soy Broth (REF 402155). Quando si analizzano pellicole orodispersibili, sciogliere 10 pellicole nel Farmacopeia Diluent. Filtrare il volume corrispondente a 1 film attraverso una membrana filtrante sterile e metterlo in 100 mL di Tryptic Soy Broth. Mescolare e incubare a 30-35 °C per 18-24 ore. Agitare il contenitore, trasferire 1 mL di Tryptic Soy Broth in 100 mL di Mac Conkey Broth EP e incubare a 42-44 °C per 24-48 h. Effettuare la subcoltura su una piastra di Mac Conkey Agar (REF 401670) e incubare a 30-35 °C per 18-72 h. Per la procedura di determinazione dei coliformi in campioni diversi dai prodotti farmaceutici non sterili, vedere 401675 Mac Conkey Broth (Purple) (REF 401675).

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, la crescita microbica è evidenziata dalla torbidità del brodo. L'ingiallimento del brodo e la produzione di gas suggeriscono la presenza di *E. coli* ed eventualmente di altri batteri coliformi. Il solo ingiallimento suggerisce la presenza di coliformi diversi da *E. coli*. La crescita di colonie su MacConkey Agar indica la possibile presenza di *E. coli*. Ciò viene confermato dai test di identificazione. Secondo la Farmacopea Europea, il prodotto è conforme al test se non sono presenti colonie su piastre di MacConkey Agar o se i test di identificazione sono negativi.





11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore finale 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 elencati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 8739	42-44°/ 24 H-A	buona crescita con gas e viraggio al giallo
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	42-44°/ 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 Broth EP disidratato (lotto di prova: TB) viene valutato per la produttività e la selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento (RB) precedentemente approvato.

La produttività viene testata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni decimali appropriate di organismi target in provette, incubando a 42-44°C e a 37°C per 24 ore e registrando la diluizione più alta che mostra crescita/gas/colore giallo nel lotto di riferimento (Gr_{RB}) e nel lotto di prova (Gr_{TB}). La produttività è testata con i seguenti ceppi *E. coli* ATCC 8739, *E. coli* ATCC 25922, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *C. freundii* ATCC 43864, *S. Typhimurium* ATCC 14028. L'indice di produttività $Gr_{RB}-Gr_{TB}$ per ciascun ceppo in esame deve essere ≤ 1 . La selettività viene testata con il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di diluizioni decimali appropriate di organismi Gram-positivi in provette e registrando la diluizione più alta che mostra crescita. La selettività viene testata con i seguenti ceppi: *S. aureus* ATCC 6538 e *E. faecalis* ATCC 19433. *S. aureus* è totalmente inibito mentre *E. faecalis* è parzialmente inibito.

13 - 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.
- Prestare attenzione all'apertura dei tappi a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- I flaconi pronti all'uso sono soggetti a sterilizzazione terminale in autoclave.
- 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.

14 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Flaconi pronti all'uso

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni i flaconi sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. I flaconi estratti dal confezionamento secondario possono essere utilizzati sino alla data di scadenza. I flaconi aperti devono essere usati immediatamente. Prima dell'uso, controllare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Eliminare i flaconi con segni di deterioramento (es. contaminazione microbica, torbidità anormale, colore atipico).

Terreno disidratato

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).

15 - BIBLIOGRAFIA

- MacConkey A. Zentralbl. Bakteriologie. 1901; 29:740.
- MacConkey A. Lactose-Fermenting Bacteria in Faeces. J Hyg (Lond) 1905; Jul;5(3):333-79
- MacConkey A. Bile Salt Media and their advantages in some Bacteriological Examinations. J Hyg (Lond) 1905; 8:322.
- Childs E, Allen LA. Improved methods for determining the most probable number of Bacterium coli and of Streptococcus faecalis. J Hyg Camb 1953; 51:468.
- European Pharmacopoeia 11th Edition, 2022, Vol. 1; 2.6.13 Microbiological Examination of non-sterile products: test for specified micro-organisms: 01/2021:20631.





TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 REF	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	 Monouso
 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 2	Aggiornamento del contenuto e del Layout	03/2023
Revisione 3	Inserimento dei flaconi pronti all'uso, revisione cap.5	03/2025

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.
P:DS-C:FCSMTS

