



## MacConkey Agar

Selective and differential medium for detection of Enterobacteriaceae from clinical samples and other materials.

### INTENDED PURPOSE

Slightly selective medium for the differentiation between lactose-fermenting and lactose-non-fermenting Gram-negative enteric bacilli from faeces, urine, foodstuffs, wastewater and other materials of sanitary importance. This medium is intended as an aid in the diagnosis, requiring additional tests to complete the diagnostic results.

### DESCRIPTION

MacConkey Agar is a slightly selective and differentiating agar that only grows gram-negative bacterial species; it can further differentiate the gram-negative organisms based on their lactose metabolism. The fermentation of lactose produces organic acids, particularly lactic acid, which decreases the pH of the agar. This medium contains a pH indicator that turns pink under acidic conditions. Therefore, lactose-fermenting-gram-negatives (lactose-fermenters) will form pink colonies, while non-lactose fermenters will form off-white opaque colonies. Even within lactose-fermenters, species will show a varying rate of growth. 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/litre)

|                              |        |
|------------------------------|--------|
| 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 and/or supplemented as required to meet performance specifications.

\*\* Adjusted according to gel strength to meet performance specifications.

### METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of gelatin and peptone 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

#### Dehydrated medium

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.

#### Medium in bottles

Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (losing 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.

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: Autoclave, water bath, sterile Petri plates, test tubes, inoculating loops, swabs, incubator, quality control organisms.

## SPECIMENS

Clinical specimens should be sampled at the acute stage, before antimicrobial therapy (where possible) and examined as soon as possible after collection.

Sample can be inoculated directly onto the agar. Good laboratory practices for collection, transport and storage of the clinical specimens should be applied. Refer to specific guidelines for more information about specimen collection and preparation.

## TEST PROCEDURE

Ensure there is no visible moisture on the plates before use.

Inoculate the plates by directly streaking the specimen on the agar surface or spread the sample from an enrichment culture. Incubate aerobically at  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  for 18-24 h.

To isolate *E. coli* in pharmaceutical products, the Harmonized USP/EP/JP method recommends carrying out a two steps enrichment procedure by inoculating the sample in Tryptic Soy Broth and afterwards in MacConkey Broth. Subculture on a plate of MacConkey Agar and incubate aerobically at  $30\text{-}35^\circ\text{C}$  for 18-72 hours.

## INTERPRETING RESULTS

Lactose-non fermenting 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.

## STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at  $10\text{-}30^\circ\text{C}$ , in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates at  $10\text{-}25^\circ\text{C}$  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

**Appearance of Dehydrated Medium:** free-flowing, homogeneous, beige-pink.

**Appearance of Prepared Medium:** slightly opalescent, pinkish red.

**Expected Cultural Response:**

| Control strain                |             | Inoculum               | Incubation                             | Criteria                       | Specification                                              |
|-------------------------------|-------------|------------------------|----------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------------|
| <i>Salmonella</i> Typhimurium | ATCC® 14028 | 50-100 CFU             | 18-24 h / $35 \pm 2^\circ\text{C}$     | Good growth ( $P_R \geq 0.5$ ) | Colourless colonies                                        |
| <i>Shigella flexneri</i>      | ATCC® 12022 |                        |                                        |                                | Colourless colonies                                        |
| <i>Proteus mirabilis</i>      | ATCC® 12453 |                        |                                        |                                | Colourless colonies                                        |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>  | ATCC® 13883 |                        |                                        |                                | Pink colonies                                              |
| <i>Escherichia coli</i>       | ATCC® 8739  |                        | 18-72 h / $32.5 \pm 2.5^\circ\text{C}$ |                                | Pink colonies with a zone of precipitated bile             |
| <i>Enterococcus faecalis</i>  | ATCC® 29212 | $10^4\text{-}10^6$ CFU | 18-24 h / $35 \pm 2^\circ\text{C}$     | -                              | Partial to complete inhibition, very small opaque colonies |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | ATCC® 25923 |                        |                                        | -                              | Inhibition                                                 |

A productivity ratio ( $P_R$ ) of 0.5 is equivalent to a recovery rate of 50%.

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of MacConkey Agar was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

## LIMITATIONS

Invalid results can be caused by poor specimen quality, improper sample collection, improper transportation, improper laboratory processing, or a limitation of the testing technology. The operator should understand the principles of the procedures, including its performance limitations, in advance of operation to avoid potential mistakes.

Growth depends on the requirements of each individual organism. It is therefore possible that certain strains which have specific requirements (substrate, temperature, incubation conditions, etc.) may not develop.

MacConkey Agar is intended as an aid in the diagnosis of infectious diseases, requiring further tests to complete the diagnostic results.

## WARNING AND PRECAUTIONS

- 1) **For *in vitro* diagnostic use (IVD).**
- 2) **For laboratory professional use only.**
- 3) Operators must be trained and have certain experience. Please read the instructions carefully before using the product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.
- 4) Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.
- 5) Do not use if the product or packaging appears to be damaged.
- 6) Follow standard precautions. All patient specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- 7) Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Dispose of hazardous or biologically contaminated materials according to the practices of your institution.
- 8) Avoid cross-contamination of samples by using disposable tips and changing them after each sample.
- 9) Do not mix reagents of different batches. Please use the product within the validity period.
- 10) Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled.
- 11) Results should be interpreted by a trained professional in conjunction with the patient's history and clinical signs and symptoms, and epidemiological risk factors.
- 12) Ensure laboratory equipment is calibrated and maintained in accordance with the laboratory's procedure.
- 13) When test results are transmitted from the laboratory to an informatics centre, attention has to be done to avoid erroneous data transfer.

## DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

## BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

## TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

**The product is available in the various configurations listed below.** There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit [liofilchem.com](https://www.liofilchem.com)

| Product        | Format           | Packaging  | Ref.    |
|----------------|------------------|------------|---------|
| MacConkey Agar | Plate 90 mm      | 20 plates  | 10029   |
|                |                  | 100 plates | 10029*  |
|                | Bottle           | 6 x 100 ml | 402240  |
|                |                  | 6 x 200 ml | 412240  |
|                |                  | 6 x 500 ml | 470090  |
|                | Dehydrated media | 500 g      | 610028  |
|                |                  | 100 g      | 620028  |
|                |                  | 5 kg       | 6100285 |

## Revision History

| Revision | Release Date | Change Summary                                                                           |
|----------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0        | 2024-03-12   | Updated layout and content in compliance with IVDR 2017/746, version reset to revision 0 |

In case of malfunctions or defects, contact immediately Liofilchem (\*) or the local representative.

In case of incident associated with the device, notify immediately Liofilchem (\*) or its local representative and the National Competent Authority.

\*Please login to <https://www.liofilchemstore.it/login.php> (user ID and password required) and click on Complaint.

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

[liofilchem.com/ifu-sds](https://www.liofilchem.com/ifu-sds)



## MacConkey Agar

Terreno selettivo e differenziale per la ricerca delle Enterobacteriaceae da campioni clinici ed altri materiali

### USO PREVISTO

Terreno leggermente selettivo per la differenziazione tra bacilli enterici fermentanti lattosio e bacilli enterici non fermentanti lattosio, da feci, urina, alimenti, acque reflue e altri materiali di importanza sanitaria. Il terreno è inteso come ausilio alla diagnosi, e richiede ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

### DESCRIZIONE

MacConkey Agar è un terreno leggermente selettivo e differenziale solo per le specie batteriche gram-negative; può differenziare ulteriormente gli organismi gram-negativi in base al metabolismo del lattosio.

La fermentazione del lattosio produce acidi organici, in particolare acido lattico, che abbassano il pH dell'agar. Questo terreno contiene un indicatore di pH che diventa rosa in condizioni acide. Pertanto, i gram-negativi fermentanti il lattosio formeranno colonie rosa, mentre i batteri non fermentanti il lattosio formeranno colonie opache di colore bianco sporco. Anche all'interno dei fermentatori del lattosio, le specie mostreranno un tasso di crescita variabile.

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/litro)

|                                  |        |
|----------------------------------|--------|
| 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 at 25°C      |        |

\*Adattata e/o integrata per soddisfare le specifiche di performance richieste.

\*\* 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

#### Terreno disidratato

Sospendere 51.5 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare e bollire per 1 minuto fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti.

#### Terreno in flaconi

Sciogliere il contenuto di un flacone a 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 evitando la formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi.

### MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: autoclave, bagnomaria, piastre Petri sterili, provette, anse da inoculo, tamponi, incubatore, microrganismi per il controllo qualità.

## CAMPIONI CLINICI

I campioni clinici dovrebbero essere prelevati nella fase acuta, prima della terapia antimicrobica (ove possibile) ed esaminati il prima possibile dopo la raccolta. I campioni possono essere inoculati direttamente sulla piastra. Dovrebbero essere applicate le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici.

Fare riferimento alle linee guida specifiche per ulteriori informazioni sulla raccolta e la preparazione dei campioni.

## 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 ed utilizzare la coltura ottenuta per inoculare MacConkey Broth. Quindi subcoltivare su una piastra di MacConkey Agar ed incubare a  $30-35^\circ\text{C}$  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.

## CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare la polvere a  $10-30^\circ\text{C}$ , in un ambiente asciutto, nel suo contenitore originale ben chiuso. Conservare i flaconi e le piastre pronte a  $10-25^\circ\text{C}$  al riparo dalla luce. Non usare il prodotto oltre la data di scadenza indicata in 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 QUALITÀ

**Aspetto del Terreno Disidratato:** omogeneo, fine granulometria, beige-rosa.

**Aspetto del Terreno Preparato:** rosastro-rosso, leggermente opalescente.

**Risultati Attesi dei Test Culturali:**

| Ceppi di controllo            |             | Inoculo                                 | Incubazione               | Criteri                                  | Specifiche                                                                                    |
|-------------------------------|-------------|-----------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Salmonella</i> Typhimurium | ATCC® 14028 | 50-100<br>UFC                           | 18-24 h /<br>35 ± 2°C     | Crescita buona<br>(P <sub>R</sub> ≥ 0.5) | Colonie incolori                                                                              |
| <i>Shigella flexneri</i>      | ATCC® 12022 |                                         |                           |                                          | Colonie incolori                                                                              |
| <i>Proteus mirabilis</i>      | ATCC® 12453 |                                         | Colonie incolori          |                                          |                                                                                               |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>  | ATCC® 13883 |                                         | Colonie rosa              |                                          |                                                                                               |
| <i>Escherichia coli</i>       | ATCC® 8739  |                                         | 18-72 h /<br>32.5 ± 2.5°C |                                          | Colonie rosa con<br>precipitati di bile                                                       |
| <i>Enterococcus faecalis</i>  | ATCC® 29212 | 10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup><br>UFC | 18-24 h /<br>35 ± 2°C     | -                                        | Crescita da<br>parzialmente a<br>completamente<br>inibita, colonie molto<br>piccole ed opache |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | ATCC® 25923 |                                         |                           | -                                        | Crescita inibita                                                                              |

Un rapporto di produttività ( $P_R$ ) di 0.5 è equivalente ad un tasso di recupero del 50%.

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

## CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I test di performance per MacConkey Agar sono stati effettuati utilizzando i ceppi CQ sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

## LIMITAZIONI

Risultati non validi possono essere causati da una scarsa qualità del campione, da una raccolta inadeguata del campione, da un trasporto inadeguato, da un'elaborazione inadeguata da parte del laboratorio o da una limitazione della tecnologia di analisi. L'operatore deve comprendere i principi delle procedure, compresi i limiti prestazionali, prima dell'operazione per evitare potenziali errori.

La crescita dipende dalle esigenze di ogni singolo organismo. È quindi possibile che alcuni ceppi che hanno esigenze specifiche (substrato, temperatura, condizioni di incubazione, ecc.) non si sviluppino.

MacConkey Agar è inteso come ausilio nella diagnosi delle malattie infettive, richiedendo ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

## AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- 1) **Per uso diagnostico in vitro (IVD).**
- 2) **Solo per uso professionale di laboratorio.**
- 3) Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.
- 4) Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
- 5) Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
- 6) Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.
- 7) Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.
- 8) Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
- 9) Non mescolare reagenti di lotti diversi. Si prega di utilizzare il prodotto entro il periodo di validità.
- 10) Non mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o maneggiare lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati reagenti e campioni umani.
- 11) I risultati devono essere interpretati da un professionista qualificato insieme alla storia del paziente, ai segni e sintomi clinici e ai fattori di rischio epidemiologici.
- 12) Assicurarsi che le apparecchiature di laboratorio siano calibrate e mantenute in conformità con la procedura del laboratorio.
- 13) Quando i risultati dei test vengono trasmessi dal laboratorio a un centro informatico, è necessario prestare attenzione per evitare trasferimenti di dati errati.

## SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

## BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

## TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

**Il prodotto è disponibile in diverse configurazioni. Vedere l'elenco nella lingua inglese.**

In caso di malfunzionamenti o difetti, contattare immediatamente Liofilchem (\*) o il rappresentante locale.

In caso di incidente associato al dispositivo, avvisare immediatamente Liofilchem (\*) o il suo rappresentante locale e l'Autorità Nazionale Competente.

\*Si prega di effettuare il login su <https://www.liofilchemstore.it/login.php> (user ID e password richiesti) e cliccare su "Complaint".

Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online: [liofilchem.com/ifu-sds](https://www.liofilchem.com/ifu-sds)

## References / Riferimenti

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. 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.

## Table of Symbols / Tabella dei Simboli

|                                                                                     |                                                                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | Batch code / Codice lotto                                                                  |
|    | Catalogue number / Numero di catalogo                                                      |
|    | <i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i> |
|    | Manufacturer / Fabbrikante                                                                 |
|    | Use by / Utilizzare entro                                                                  |
|    | Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura                                   |
|   | Temperature limitation / Limiti di temperatura                                             |
|  | Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi                    |
|  | Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso                          |
|  | Do not reuse / Non riutilizzare                                                            |
|  | Keep away from sunlight / Tenere al riparo dalla luce solare                               |



**Liofilchem® s.r.l.**

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy  
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

[www.liofilchem.com](http://www.liofilchem.com)

[liofilchem@liofilchem.com](mailto:liofilchem@liofilchem.com)

