

## MacConkey Agar EP/USP/ISO

Kat. 1052

Pro izolaci a identifikaci enterobakterií z výkalů, moči, odpadních vod a potravin.

### Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní izolace	Enterobakterie
Selektivní izolace	<i>Escherichia coli</i>
Detekce	<i>Shigella</i>

Odvětví aplikace: Farmacie / Veterinární medicína / Kosmetika / Klinická medicína / Potravinářský průmysl / Kontrola kvality finálních výrobků

Předpisy: USP / Evropský lékopis / ISO 21150 / ISO 21567



### Principy a použití

MacConkey Agar se používá k selektivní izolaci a identifikaci enterobakterií z výkalů, moči, odpadních vod a potravin. Je to také selektivní a diferenační médium pro izolaci střevních gramnegativních bakterií.

Vzorek lze naočkovat přímo na médium nebo nejprve do obohacujícího bujónu, jako je tetrathionátový bujón (114), selenit-cystinový bujón (LC1220), obohacující bujón GN (LC1248) nebo MacConkeyho bujón (LC1210).

Evropský lékopis USP doporučuje tento prostředek v odstavci 2.6.13: "Mikrobiologické vyšetření nesterilních výrobků: Zkouška na specifikované mikroorganismy" pro růst podporující a indikativní vlastnosti média při zkoušce na *E. coli*. Rovněž je toto médium doporučeno pro testování *E. coli* ve výrobcích.

ISO 21567 doporučuje toto médium pro detekci *Shigella spp.* Používá se k získání izolovaných kolonií. Po inkubaci destiček Agar McConkey je nutný konfirmační krok.

Norma ISO 21150 doporučuje toto médium pro detekci *E. coli* v kosmetických přípravcích.

Želatinový pankreatický digesát, masový pepton a kasein poskytují dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Laktóza je zkvasitelný sacharid poskytující uhlík a energii. Chlorid sodný dodává nezbytné elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu. Žlučové soli a krystalová violet jsou selektivní látky a inhibují grampozitivní organismy. Neutrální červeně je indikátorem pH. Při fermentaci laktózy se pH média snižuje, čímž se barva neutrální červeně mění na růžovou. Bakteriologický agar je zpevňující agens.

Izolované kolonie *Escherichia coli* mají cihlově červenou barvu a jsou obklopeny zónou vysrážené žluči. Tato žlučová sraženina je způsobena místním poklesem pH v okolí kolonie v důsledku fermentace laktózy.

### Složení v g/l

Bakteriologický agar	13,5	Žlučové soli	1,5
Krystalová violet	0,001	Želatinový pankreatický digesát	17
Neutrální červeně	0,03	Směs peptonu	3
Chlorid sodný	5	Monohydrát laktózy	10

Typické složení g/l \* Upraveno a/nebo doplněno podle potřeby tak, aby splňovalo kritéria účinnosti.

### Příprava

Suspendujte 50 g média v jednom litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Ochlaďte na 47 °C, dobře promíchejte a dávkujte do destiček. Nechte destičky ztuhnout a umístěte je dnem vzhůru, aby se zabránilo nadměrné vlhkosti na povrchu média.

## Návod k použití

" Pro klinickou diagnostiku se používají vzorky moči a stolice.

- Rozetřete desku pomocí smyčky nebo tamponu
- Inkubujte v aerobních podmínkách při teplotě  $35 \pm 2$  °C po dobu 18-24 hodin.
- Odečet a interpretace výsledků.

" Pro jiná použití, na která se nevztahuje označení CE:

Test specifikovaných mikroorganismů (*Enterobacteriaceae*) podle Evropského lékopisu:

- Inokulujte a inkubujte při teplotě 30-35 °C po dobu 18-24 hodin v tryptikaseinovém sójovém bujónu (TSB) (LC1224).
- Subkultivujte v MacConkeyho bujónu a inkubujte při teplotě 42-44 °C po dobu 24-48 hodin (LC1210).
- Proužek položte na talířek MacConkey Agar.
- Inkubujte při teplotě 30-35 °C po dobu 18-72 hodin.
- Růst kolonií se sraženou žlučí ukazuje na možnou přítomnost *E.coli*.
- To je potvrzeno identifikačním testem.
- Výrobky vyhovují testu, pokud nejsou přítomny žádné kolonie nebo pokud jsou identifikační testy negativní.

Detekce *Shigella* spp. podle ISO 21567:

- Očkujte vzorek v bujónu *Shigella* (LC2078) s 0,5 µg/ml novobiocinu. Inkubujte v podmínkách anaerobiózy při teplotě  $41,5 \pm 1$  °C po dobu 16-20 hodin.
- Z bujónu ze shigel naočkujte MacConkeyho agar (LC1052), XLD agar (LC1274) a Hektoen Enteric Agar (LC1030). Inkubujte při teplotě  $37 \pm 1$  °C po dobu 20-24 hodin.
- Biochemický test musí být proveden z podezřelých a charakteristických kolonií.

Detekce *E. coli* podle normy ISO 21150:

- Rozpusťte 1 g nebo 1 ml produktu nejméně 9 ml bujónu pro obohacení Eugon LT 100 (LC2110). Podle údajů ISO semůže používat různé v závislosti na tom, zda se analyzují mísitelné nebo nemísitelné produkty nebo zda jsou vzorky filtrovatelné produkty. Inkubujte při teplotě  $32,5 \pm 2,5$  °C po dobu nejméně 20 hodin (maximálně 72 hodin).
- Z obohacovacího bujónu senaočkujte MacConkeyův agar, aby se získaly izolované kolonie. Inkubuje se při teplotě  $32,5 \pm 2,5$  °C po dobu nejméně 24 hodin (maximálně 48 hodin).
- Potvrzení se provádí u podezřelých kolonií.

Doporučuje se vzorky proužkovat na jiná selektivní média, jako je Eosin Methylene Blue Agar (LC1039), SS Agar (LC1064), XLD Agar (LC1080), Hektoen Enteric Agar (LC1030), Bismuth Sulfite Agar (LC1011), zejména pro *Salmonella typhi*, a/nebo Brilliant Green Agar (LC1078), zejména pro *Salmonella*. Viz seznamy těchto přípravků v této příručce.

VLASTNOSTI KOLONIÍ:

*Escherichia coli*: Červená nebo růžová; není slizovitá; kulatá; neprůhledná sraženina žlučových solí.

*Klebsiella*: Velká, červená, hlenovitá .

*Enterobacter aerogenes*: Růžová až červená.

*Serratia*: Červená až růžová, ne mukoidní.

*Arizona* a *Citrobacter*: Bezbarvý, průhledný; červený, pokud je laktóza fermentována.

*Proteus*: Bezbarvý a průhledný. Žlutá barva kolem kolonie.

*Salmonella*: Bezbarvá, průhledná nebo jantarová. Žlutá barva kolem kolonie.

*Shigella sonnei*\*: Bezbarvá až světle růžová, průsvitná, laktóza negativní *Shigella*, jiné druhy: Bezbarvé, průsvitné, laktóza negativní.

\**Shigella sonnei* může fermentovat laktózu po více než 40 hodinách inkubace, což dává slabou reakci podobnou reakci *Escherichia coli* po stejné době.

## Kontrola kvality

Rozpuštnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytků	Jemný prášek	Běžovo-růžová	Fialově červená.	7,1±0,2

## Mikrobiologický test

Podle Evropského lékopisu; *Escherichia coli* ATCC 8739:

Inkubační podmínky: (30-35 °C / 18-72 h)

Inokulační podmínky: (<=100 CFU)

Podle ISO 21567; *Shigella dysenteriae*:

Inkubační podmínky: ( $37 \pm 1$  °C / 20-24 h)

Podle ISO 21150; *Escherichia coli* ATCC 8739:

Inkubační podmínky: (30-35 °C / 24-48 h)

Ostatní kmeny: *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis* a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ATCC 25922:

Inkubační podmínky: ( $35 \pm 2$  °C / 24 h).

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
----------------	-------------	-------------------------

<i>Klebsiella aerogenes</i> ATCC 13048	Dobrý růst	Růžovočervené kolonie
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Dobrý růst	Bezbarvé kolonie
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 13313	Dobrý růst	Bezbarvé kolonie
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	Dobrý růst	Bezbarvé kolonie
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Dobrý růst	Růžovočervené (žlučové sraženiny) kolonie
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Inhibice	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Dobrý růst	Růžovočervené (žlučové sraženiny) kolonie

## Skladování

---

Teplota Min.: 2 °C  
Teplota Max.: 25 °C

## Bibliografie

---

MacConkey J. H. 5:33. 1905. Joseph Md. State. Dept. Health. Postupy, 1960.  
Harmonizovaný evropský lékopis ISO 21567.  
Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda detekce *Shigella* spp.  
ISO 21150. Mikrobiologie kosmetiky. Detekce *Escherichia coli*