



MacConkey Agar No.2

For detection of enterococci from clinical and nonclinical specimens with mixed microbial flora.

INTENDED PURPOSE

Selective medium used for the identification of enterococci in the presence of non-lactose fermenters and coliform bacteria in water, food and clinical specimens. This medium is intended as an aid in the diagnosis, requiring additional tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

MacConkey Agar No.2 is a modification of MacConkey Agar (also known as MacConkey Agar No.3).

This medium contains Bile Salts No.2 which are less inhibitory allowing the growth and recognition of enterococci. Such bacteria are frequently sought as an index of faecal pollution.

TYPICAL FORMULA*	(g/litre)
Peptone	20.0
Lactose	10.0
Sodium Chloride	5.0
Bile Salts No.2	1.5
Crystal Violet	0.001
Neutral Red	0.05
Agar	13.5
Final pH 7.2 ± 0.2 at 25°C	

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

METHOD PRINCIPLE

Peptone provides 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 other than enterococci and allowing Gram-negative bacteria to grow. Neutral red is the pH indicator. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

Dehydrated medium

Suspend 50.0 g of the powder in 1 litre of distilled or deionized water. Heat to boil for 1 minute shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

SPECIMENS

Clinical specimens, such as urine and faeces, should be sampled at the acute stage, before antimicrobial therapy (where possible) and examined as soon as possible after collection. 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 onto the agar surface in order to obtain well-isolated colonies.

Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 h. It may be necessary to extend incubation for further 24 h.

For more details, consult appropriate guidances.

INTERPRETING RESULTS

Colourless or pink to red colonies are produced on this medium depending upon the ability of the isolate to ferment lactose.

Enterococci appear as small, intensely coloured red colonies surrounded by a zone of pale red precipitate. Lactose-fermenting bacteria, such as *E. coli* and *Klebsiella* spp., grow as pink-red colonies with or without a zone of bile precipitate.

Non-lactose fermenting organisms, such as *Salmonella* spp, *Shigella* and *Proteus* spp, form colourless colonies, whilst staphylococci and non-faecal streptococci, are partially or completely inhibited.

Note: Further testing should be conducted to confirm the presumptive identification of organisms isolated on this medium.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store prepared plates at 10-25°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.

Ready-to-use plates: 6 months.

QUALITY CONTROL

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

Appearance of Prepared Medium: Slightly opalescent, red-violet.

Expected Cultural Response:

Control strain	Inoculum	Incubation	Criteria	Specification	
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087 (ATCC® 29212; NCTC 12697)	50-100 CFU	18-24 h / 35 ± 2°C	Good growth (P _R ≥ 0.5)	Red colonies
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030 (ATCC® 13076; NCTC 12694)				Colourless colonies
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)				Pink-red colonies (bile precipitate)
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034 (ATCC® 25923; NCTC 12981)	10 ⁴ -10 ⁶ CFU		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 No.2 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.

Due to nutritional variation, some strains may result in poor growth or fail to grow on this medium. A nonselective medium, such as Columbia Agar with 5% sheep blood, should also be inoculated with the sample for primary isolation.

MacConkey Agar No.2 is intended as an aid in the diagnosis of infectious diseases, requiring further tests to complete the diagnostic results. All identification tests should ideally be performed from non-selective agar.

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 configurations listed below. There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit liofilchem.com

Product	Format	Packaging	Ref.
MacConkey Agar No.2	Plate 90 mm	20 plates	10603
	Dehydrated media	500 g	610057

Significant changes from previous version:

Document	Release Date	Change Summary
10603_IFU-0	2022-10-26	Document creation (layout and content in compliance with IVDR 2017/746)

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

liofilchem.com/ifu-sds



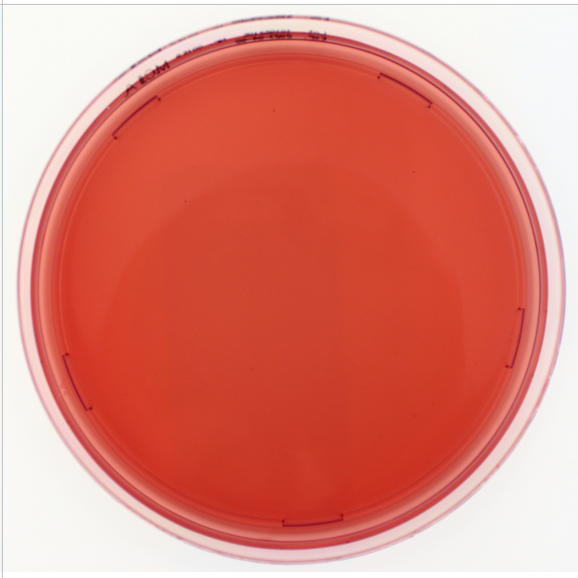
Enterococcus faecalis WDCM 00087



Escherichia coli WDCM 00013



Salmonella Enteritidis WDCM 00030



Uninoculated



MacConkey Agar No.2

Per la ricerca di enterococchi da campioni clinici e non clinici con flora microbica mista.

USO PREVISTO

Terreno selettivo utilizzato per l'identificazione di enterococchi in presenza di microrganismi che non fermentano il lattosio e batteri coliformi in acqua, alimenti e campioni clinici. Questo terreno è inteso come ausilio alla diagnosi e si necessita di ulteriori test di identificazione per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

MacConkey Agar No.2 è una modifica del MacConkey Agar (conosciuto anche come MacConkey Agar No.3). Questo terreno contiene sali biliari n.2 che sono meno inibitori consentendo la crescita e il riconoscimento degli enterococchi. Tali batteri sono spesso ricercati come indice di inquinamento fecale.

FORMULA TIPICA*

	(g/litro)
Peptone	20.0
Lattosio	10.0
Sodio Cloruro	5.0
Salid di Bile N.2	1.5
Cristal Violetto	0.001
Rosso Neutro	0.05
Agar	13.5
pH Finale 7.2 ± 0.2 at 25°C	

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

PRINCIPIO DEL METODO

Il peptone fornisce 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. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo B. Sali di bile e cristal violetto sono gli agenti selettivi che inibiscono i batteri Gram positivi, ad eccezione degli enterococchi, permettendo invece la crescita dei batteri Gram negativi. Il rosso neutro è l'indicatore di pH. L'agar è l'agente solidificante.

PREPARATION

Terreno disidratato

Sospendere 50.0 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Riscaldare agitando di frequente e bollire per ottenere la completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

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

CAMPIONI CLINICI

I campioni clinici, come ad esempio urine e feci, devono essere campionati nella fase acuta, prima della terapia antibiotica (ove possibile) ed esaminati il prima possibile dopo il prelievo. Per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici devono essere applicate le buone pratiche di laboratorio. Fare riferimento alle linee guida specifiche per maggiori informazioni sulla raccolta e la preparazione dei campioni.

PROCEDURA DEL TEST

Assicurarsi che non vi sia umidità visibile sulle piastre prima dell'uso.

Inoculare le piastre strisciando direttamente il campione sulla superficie dell'agar al fine di ottenere colonie ben isolate.

Incubare in aerobiosi a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 18-24 h. Può essere necessario prolungare l'incubazione per oltre 24 ore.

Per maggiori dettagli, consultare le guide appropriate.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Sul terreno si sviluppano colonie incolori o da rosa a rosse a seconda della capacità dell'isolato di fermentare il lattosio.

Gli enterococchi si presentano come colonie piccole, di colore rosso intenso circondate da una zona di precipitato rosso pallido.

I batteri che fermentano il lattosio, come *E. coli* e *Klebsiella* spp., crescono come colonie rosa-rosse con o senza una zona di precipitato biliare.

Gli organismi non fermentanti il lattosio, come *Salmonella* spp, *Shigella* e *Proteus* spp, formano colonie incolori, mentre gli stafilococchi e gli streptococchi non fecali sono parzialmente o completamente inibiti.

Nota: Sono necessari ulteriori test per confermare l'identificazione presunta dei microrganismi isolati su questo terreno.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare la polvere a 10-30°C, in un ambiente asciutto, nel suo contenitore originale ben chiuso. Conservare le piastre preparate a 10-25°C al riparo dalla luce. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata in etichetta o se il prodotto presenta segni di contaminazione o di deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.

Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

CONTROLLO QUALITÀ

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

Aspetto del Terreno Preparato: Leggermente opalescente, rosso-vola.

Risultati Attesi dei Test Culturali:

Ceppi di controllo		Inoculo	Incubazione	Criteri	Specifiche
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087 (ATCC® 29212; NCTC 12697)	50-100 UFC	18-24 h / 35 ± 2°C	Crescita buona (Pr ≥ 0.5)	Colonie rosse
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030 (ATCC® 13076; NCTC 12694)				Colonie incolori
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)				Colonie rosa-rosso (precipitati di bile)
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034 (ATCC® 25923; NCTC 12981)	10 ⁴ -10 ⁶ UFC		Inibizione	---

Un rapporto di produttività (Pr) 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 No.2 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 impropria del campione, da un trasporto improprio, da un processamento improprio in laboratorio o da una limitazione della tecnologia di analisi. L'operatore deve comprendere i principi delle procedure, compresi i limiti nelle prestazioni, prima delle singole operazioni per evitare potenziali errori.

A causa della diverse esigenze nutrizionali, alcuni ceppi possono risultare in una crescita scarsa o non crescere affatto su questo terreno. Per l'isolamento primario il campione dovrebbe essere inoculato anche su un terreno solido non selettivo, come ad esempio Columbia Agar con 5% sangue di montone.

MacConkey Agar No.2 è inteso come ausilio nella diagnosi di malattie infettive, richiedendo ulteriori test per completare i risultati diagnostici. Tutti i test di identificazione dovrebbero idealmente essere eseguiti da un agar non selettivo.

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.

Per le configurazioni disponibili di questo prodotto vedere l'elenco nella lingua inglese.












Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online:

liofilchem.com/ifu-sds

References / Riferimenti

1. Public Health England (2021) UK SMI ID 4 issue 4: Identification of *Streptococcus* species, *Enterococcus* species and morphologically similar organisms. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1019677/ID_4i4.pdf
2. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
3. Public Health England (2019) UK SMI B 41 (issue 8.7): investigation of urine. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/770688/B_41i8.7.pdf
4. Public Health England (2017) Inoculation of culture media for bacteriology. UK Standards for Microbiology Investigations. Q 5 Issue 2. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/583859/Q_5i2.pdf
5. Murray, Baron, Jorgensen, Landry and Pfaller ed. (2007) Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. USA.
7. Farmer III, J.J. (2003) Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen,
8. Downes, F.P., and K. Ito. (2001) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
9. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.
10. MacConkey, A. (1905) Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg. 5:333–379.
11. MacConkey, A.T. (1900) Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli* communis and the *Bacillus typhi* abdominalis. The Lancet, Part II:20.

Table of Symbols / Tabella dei Simboli

	Batch code / Codice del lotto
	Catalogue number / Numero di catalogo
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante
	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

liofilchem@liofilchem.com

