

## MacConkey-Agar nach EP/USP

**REF** 1460220020/1460220120 (heipha 0126e), 1460660020/1460660100 (heipha 126ph), 1464270020 (heipha 240e)

### Zweckbestimmung und Anwendungsbereich

MacConkey-Agar ist ein mäßig selektiver Nährboden zum Nachweis von *Enterobacteriaceae* bzw. *E. coli* in pharmazeutischen Produkten, Lebensmitteln, Wasser und anderen Materialien.

Der Nährboden entspricht in seiner Zusammensetzung den Empfehlungen der aktuellen European Pharmacopoeia (EP), der United States Pharmacopoeia (USP) sowie weitgehend dem § 64 LFGB.

Der Nährboden ist als **LI**-Medium in 90 mm Schalen (Art.-Nr. 1460220020/1460220120 (heipha 0126e)), als Standardmedium in 90 mm Schalen (Art.-Nr. 1460660020/1460660100 (heipha 126ph)) und als **RT**-Abklatschmedium (Art.-Nr. 1464270020 (heipha 240e)) verfügbar.

### Typische Zusammensetzung pro l

Pankreashydrolysat aus Gelatine	17 g	Fleisch- und Caseinpepton	3 g
Lactose-Monohydrat	10 g	NaCl	5 g
Cholate (Gallensalze)	1,5 g	Kristallviolett	1 mg
Neutralrot	30 mg	Agar	13,5 g
pH 7,1 ± 0,2			

Der Agar ist klar und rotbraun gefärbt.

### Lagerbedingungen und Verwendungsdauer

Das Produkt ist gemäß den Angaben auf dem Etikett aufrecht bei 15-25°C (Artikelnummern 1460220020/1460220120 (heipha 0126e) und 1464270020 (heipha 240e)) bzw. 4-12°C (Artikelnummer 1460660020/1460660100 (heipha 126ph)) zu lagern sowie vor direkter Sonneneinstrahlung, Licht und starken Temperaturschwankungen zu schützen.

Plötzliche Temperaturschwankungen sowie die seitlich liegende Lagerung von Platten können die Bildung von Kondenswasser verstärken. Die Haltbarkeit des Produktes im ungeöffneten Zustand ist auf dem Etikett angegeben. Nach Ablauf des Verfalldatums sollte es nicht mehr verwendet werden.

### Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Die Berührung sowie das Anhusten oder -niesen eines unbeimpften Nährmediums ist generell zu vermeiden, da dies zur Kontamination des Nährmediums führen kann. Nach einem solchen Vorfall ist das Nährmedium zu verwerfen und darf nicht mehr eingesetzt werden.

Nährmedien, die Inhaltsstoffe tierischen oder menschlichen Ursprungs enthalten (wie z. B. Schaf- oder Humanblut oder Fleischpepton - siehe Zusammensetzung) sind als potentiell infektiös anzusehen. Ein Kontakt des Anwenders mit solchen Medien ist zu vermeiden. Nach direktem Kontakt mit dem Medium wird die Desinfektion des betroffenen Hautareals empfohlen.

Mikrobiologische Fertigmedien sind zum einmaligen Gebrauch bestimmt.

## Prinzip der Methode und Verfahrensbeschränkungen

Gallensalze und Kristallviolett hemmen weitgehend das Wachstum Gram-positiver Bakterien. Neutralrot zeigt Säurebildung aus Lactose durch pinkfarbene oder rot gefärbte Kolonien an. Bakterien, wie *E. coli* und andere Säurebildende Bakterien, wachsen als pinkfarbene bis rote Kolonien und sind von einem Hof aus präzipitierten Gallensalzen umgeben. Lactose-negative Bakterien wachsen als farblose Kolonien.

Das Wachstum von *Enterobacteriaceae* auf MacConkey-Agar gehört zur Definition dieser Familie.



Abbildung 1:

Kolonien von *E. coli* ATCC 8739 auf MacConkey-Agar (Art.-Nr. 1460480020/1460480120 (heipha 0110e))

Inkubation: 1Tag; 34 ± 1°C

Hinweis: Aufgrund der geringen Selektivität dieses Nährmediums innerhalb der *Enterobacteriaceae* sind Salmonellen, die nur in geringer Anzahl vorhanden sind, bei gleichzeitig großer Anzahl von Begleitfora nicht nachweisbar.

## Untersuchungsmaterial und Testvorbereitung / Beschreibung der Durchführung; Leistungsdaten

Das Untersuchungsmaterial wird für den Nachweis von *E. coli* entsprechend den Vorgaben der aktuellen Pharmakopöen vorbereitet. Nach der selektiven Voranreicherung in MacConkey-Bouillon bei 42-44 °C (Artikelnummer 1464630010 (heipha 528101)) wird ein Aliquot of auf MacConkey-Agar subkultiviert.

### Kulturbedingungen

Entsprechend der Angaben in den aktuellen Pharmakopöen (EP und USP) wird der Nährboden für 18 bis 72 Stunden bei 30-35 °C inkubiert.

### Qualitätskontrolle

Teststamm	Inokulum / Inkubationsbedingungen	Wachstumseigenschaften
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	10-100 KBE/ 16-18 h bei 30-35 °C	Wiederfindung ≥ 50%
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	10-100 KBE/ 18-48 h bei 30-35 °C	Rote Kolonien mit Präzipitathof

Teststamm	Inokulum / Inkubationsbedingungen	Wachstumseigenschaften
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	10-100 KBE / 16-18 h; 30-35 °C	Wiederfindung $\geq$ 50 %, cremefarbene Kolonien, kein Schwärmen
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	10-100 KBE / 16-18 h; 30-35 °C	Wiederfindung $\geq$ 50 %, honigfarbene Kolonien
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	10-100 KBE / 16-18 h; 30-35 °C	Wiederfindung $\geq$ 50 %, kleine, farblose Kolonien; Nährboden honigfarben
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup> KBE 44-48 h bei 30-35°C	Kein Wachstum
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup> KBE 44-48 h bei 30-35°C	Kein Wachstum

## Weiterführende Identifizierung

Wachstum von Kolonien deutet auf die mögliche Anwesenheit von *E. coli* hin. Dies sollte durch Identifizierungstests bestätigt werden.

Das Produkt entspricht der Spezifikation, wenn keine Kolonien auf MacConkey-Agar gewachsen sind oder die Identifizierung negativ ist.

Für die kulturelle Bestätigung eignen sich die chromogenen Nährböden TBX-Agar (Art.-Nr. 1463260020/1463260100 (heipha 1875e)) oder Coli 2G-Agar (Art.-Nr. 1460390020/1460390100 (heipha 111e)), die den Nachweis der  $\beta$ -Glucuronidase ermöglichen. Typische Nachweis-Reaktionen für *E. coli* sind eine positive Indol-Reaktion (z.B. mit Tryptophan-Bouillon Art.-Nr. 1461710020 (heipha 2220r) und Kovac's Reagenz Art.-Nr. 1465100001 (heipha 63000)) sowie eine negative Oxidase- und Katalase-Reaktion.

## Entsorgung

Bitte beachten Sie bei der Entsorgung von bewachsenen Nährmedien die jeweils gültigen gesetzlichen Vorschriften (z. B. 20 Minuten bei 121°C autoklavieren, desinfizieren, verbrennen usw.).

## Literatur

Amtliche Sammlung von Untersuchungsvorschriften nach § 64 LFGB (Mai 1988): L 59.00-1: Untersuchung von Lebensmitteln. Nachweis von *Escherichia coli* und coliformen Keimen in natürlichem Mineralwasser, Quell- und Tafelwasser. Referenzverfahren.

European Pharmacopoeia 7.0 (2011): 2.6.13. Microbial examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.

MacConkey, A. (1905): Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg.; 8: 333-379.

United States Pharmacopoeia 34 – NF 29 (2011): <62> Microbiological examination of nonsterile products: Tests for specified microorganisms.