

## 1. FINALIDADE:

**ÁGAR SANGUE:** Meio nutritivo de uso geral, utilizado para o isolamento e cultivo de microrganismos não exigentes e exigentes provenientes de amostras clínicas e para a detecção de reações hemolíticas.

**ÁGAR MACCONKEY:** Meio seletivo, diferencial e de enumeração empregado no isolamento e diferenciação de enterobactérias. Neste meio podem-se diferenciar bactérias fermentadoras da lactose, através da formação de colônias rósea, das bactérias não fermentadoras da lactose, com formação de colônias incolores.

## 2. PRINCÍPIO DO MÉTODO:

### ÁGAR SANGUE:

A combinação de caseína e peptonas de soja torna o meio altamente nutritivo fornecendo nitrogênio orgânico, particularmente aminoácidos e peptídeos de cadeia mais longa. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico. Fatores de crescimento exclusivos melhoram as reações hemolíticas. O sangue de carneiro desfibrinado é o sangue que se utiliza mais frequentemente para o enriquecimento de meios à base de ágar.

### ÁGAR MACCONKEY:

Atualmente, encontram-se disponíveis diversos meios de cultura para o isolamento, cultura e identificação de enterobactérias e determinados organismos não fermentadores. Um dos primeiros meios deste tipo a ser desenvolvido foi de autoria de MacConkey, tendo sido publicado em 1900 e 1905. Esta formulação foi concebida sabendo-se que os sais biliares são precipitados por ácidos e que determinados microrganismos entéricos fermentam a lactose ao passo que outros não têm esta capacidade. Mais tarde, este meio foi modificado várias vezes. O ágar de MacConkey é apenas ligeiramente seletivo uma vez que a concentração de sais biliares, que inibe os microrganismos gram-positivos, é reduzida relativamente a outros meios entéricos em placas. Este meio é recomendado para utilização com amostras clínicas com probabilidade de conter flora microbiana mista como, por exemplo, a urina, vias respiratórias, feridas e outras fontes, porque permite um agrupamento preliminar de bactérias entéricas e outras bactérias gram-negativas fermentadoras e não fermentadoras da lactose. O ágar de MacConkey também é utilizado no exame microbiológico dos alimentos. A formulação original de MacConkey foi modificada na atual preparação, com a adição de cloreto de sódio e modificação na concentração de sais biliares. A modificação atual permite um melhor crescimento de espécies de *Samonella* e *Shiguella*, permitindo uma melhor diferenciação desses patógenos dos microrganismos aparentemente do grupo dos coliformes. A ação seletiva do Ágar MacConkey é devida a

presença de sais biliares que inibem o crescimento de bactérias gram positivas. A atividade inibitória é potencializada com a adição de cristal violeta. A fermentação da lactose pelos coliformes provoca uma acidificação do meio e precipitação dos sais biliares e absorção do vermelho neutro. Os coliformes aparecem como colônias rosa-violeta, circundadas por halo de precipitação. Os microrganismos não fermentadores de lactose aparecem como colônias incolores.

## 3. APRESENTAÇÃO:

APRESENTAÇÃO	CÓDIGO	QTD
ÁGAR SANGUE/MACCONKEY - 90X15MM	1231	PCT 10
EXP - ÁGAR SANGUE/MACCONKEY - 90X15MM	5816	PCT 10

## 4. COMPOSIÇÃO:

### ÁGAR SANGUE:

PEPTONA DE CASEÍNA -----	17,5 gr/L
PEPTONA DE SOJA-----	5 gr/L
CLORETO DE SÓDIO -----	5 gr/L
SANGUE DE CARNEIRO DESFIBRINADO -----	5%
ÁGAR -----	15 gr/L

### ÁGAR MACCONKEY:

PEPTONA DE GELATINA -----	17 gr/L
PEPTONAS (CARNE/CASEÍNA)-----	3 gr/L
LACTOSE MONOHIDRATADA -----	10 gr/L
SAIS BILIARES N°3 -----	1,5 gr/L
CLORETO DE SÓDIO -----	5 gr/L
VERMELHO NEUTRO -----	0,03 gr/L
CRISTAL VIOLETA -----	0,001 gr/L

## 5. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

Este produto deve ser armazenado em temperatura de 2 a 8°C, imediatamente após seu recebimento. Para fins de transporte, poderá permanecer em temperatura entre 2 a 25°C.

## 6. AMOSTRAS:

Amostras biológicas, sem restrições de tipos.

## 7. MATERIAIS NECESSÁRIOS (não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Swab;
- Alça bacteriológica.

## 8. PROCEDIMENTO TÉCNICO:

1. Retirar as placas a serem utilizadas do refrigerador e aguardar até que as mesmas alcancem a temperatura ambiente.
2. Retirar as placas a serem utilizadas do refrigerador e aguardar até que as mesmas alcancem a temperatura ambiente.
3. Estriar a superfície do meio, usando a técnica de semeadura para isolamento.
4. No final da semeadura, picar o meio com a alça para verificar hemólise em profundidade.
5. Incubar a 35°C por 18-24 horas.

## 9. RESULTADOS

### ÁGAR SANGUE:

- **Beta hemólise:** presença de halo transparente ao redor das colônias semeadas (lise total dos eritrócitos).
- **Alfa hemólise:** presença de halo esverdeado ao redor das colônias semeadas (lise parcial dos eritrócitos).
- **Gama hemólise (sem hemólise):** ausência de halo ao redor das colônias (eritrócitos permanecem íntegros).

MICROORGANISMO	CARACTERÍSTICAS
<i>Escherichia coli</i>	Crescimento bom a excelente. Pode ser beta-hemolítico
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Crescimento bom a excelente. Beta-hemólise fraca.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Crescimento bom a excelente. Alfa-hemólise
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Crescimento bom a excelente. Beta-hemólise.
<i>Enterococcus faecalis</i>	Crescimento bom a excelente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Crescimento bom a excelente. Beta-hemólise.

### ÁGAR MACCONKEY:

MICROORGANISMO	CARACTERÍSTICAS
<i>Escherichia coli</i>	Colônias cor-de-rosa a vermelhas (podem estar cercadas por uma zona de precipitação biliar), dimensão média a grande.
<i>Enterobacter spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i>	Mucoide, colônias cor-de-rosa, dimensão grande.
<i>Salmonella spp.</i> , <i>Shigella spp.</i>	Colônias incolores. Cor do meio: cor-de-laranja a âmbar, devido à redução de pH no meio. Dimensão média a grande.
<i>Pseudomonas spp.</i>	Colônias irregulares, incolores a cor-de-rosa, dimensão variável.
<i>Cocos Gram-positivos</i>	Inibição parcial a total.
<i>Fungos e Leveduras</i>	Inibição parcial a total.

## 10. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Na presença de aparecimento de quaisquer estruturas, que remetam a possível contaminação, o produto deve ser imediatamente descartado.
- Meios de cultura apresentam grande quantidade de água em sua formulação, deste modo, variações de temperatura devem ocasionar a condensação e, conseqüentemente, o acúmulo de água. O cuidado com o acondicionamento e exposição do meio a estas variações de temperatura são fundamentais para a manutenção da qualidade do produto.
- O cuidado com o acondicionamento e exposição do meio a estas variações de temperatura são fundamentais para a manutenção da qualidade do produto.
- Algumas variações de coloração na colônia, morfologia ou tamanho podem ocorrer, devido a características únicas da cepa analisada.
- Inóculos com excesso de carga bacteriana podem interferir na avaliação de resultados.
- Meios de cultura apresentam grande quantidade de água em sua formulação, deste modo, variações de temperatura devem ocasionar a condensação e, conseqüentemente, o acúmulo de água na placa.
- Resultados falso negativos podem ocorrer por técnica de coleta inadequada, armazenamento e transporte inadequados da amostra, tempo de incubação insuficiente, utilização da alça não resfriada após a flambagem.
- Resultados falso positivos podem ocorrer por erro na conservação do material, técnica de assepsia inadequada, tempo de incubação excessivo, contaminação cruzada, utilização de produto vencido, contaminado ou em condições inadequadas.

**ÁGAR SANGUE:** Lembrar que é um meio rico e crescem vários tipos de microrganismos. Por ser um meio rico, o crescimento a partir de materiais biológicos em geral costuma ser abundante. Sempre que necessário, isolar a colônia em estudo para os procedimentos de identificação, para não correr o risco de trabalhar com cepas misturadas. O meio não é apropriado para o isolamento e crescimento de *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* e outros microrganismos com requisitos nutritivos altamente específicos. O número e tipo de espécies bacterianas que surgem como agentes infecciosos é muito grande. Assim, antes do meio ser usado rotineiramente para microrganismos raramente isolados ou recentemente descobertos, a sua adequação deve ser testada primeiro pelo utilizador, ao cultivar culturas puras do organismo em questão. Embora possam ser realizados alguns testes de diagnóstico diretamente neste meio, é necessária a

realização de testes bioquímicos para uma completa identificação e, se indicado, a realização de testes imunológicos usando culturas puras. Para mais informações, consultar a bibliografia apropriada.

**ÁGAR MACCONKEY:** Apesar de o ágar MacConkey ser um meio seletivo para bacilos entéricos Gram negativos, testes bioquímicos e sorológicos, usando culturas puras são recomendados para completa identificação. Consulte as referências apropriadas para maiores informações. A incubação de placas de ágar MacConkey em atmosfera com aumento de CO<sub>2</sub> foi reportada como reduzindo o crescimento e recuperação de alguns bacilos gram negativos. A utilização de corantes na formulação pode acarretar leve foto sensibilidade, recomenda-se proteger o produto da incidência direta da luz. Algumas variações de coloração na colônia, morfologia ou tamanho podem ocorrer, devido a características únicas da cepa analisada. Inóculos com excesso de carga bacteriana podem interferir na avaliação de resultados.

## 11. CONTROLE DE QUALIDADE

A cada novo lote ou em periodicidade definida pelo usuário, testar o desempenho do produto frente a cepas ATCC ou derivadas, quanto a sua propriedade de crescimento, inibitória e diferencial.

## ÁGAR SANGUE:

- Hemólise beta hemolítica: *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 ou *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Hemólise alfa hemolítica: *Streptococcus* do grupo viridans ou *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305.
- Hemólise gama (sem hemólise): *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ou *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

## ÁGAR MACCONKEY:

- *Escherichia coli* (ATCC 25922): devem apresentar bom crescimento com colônias lactose positiva (róseas);
- *Proteus mirabilis* (ATCC 25933): devem apresentar bom crescimento com colônias lactose negativa (incolores);
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923): crescimento inibido.

## 12. PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não usar após data de validade, produto avariados e/ou com embalagens violadas.
- Antes de descartar o material usado, autoclavar a 121° C por 15 minutos.
- Descartar o produto e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.

- Observar a correlação da versão das instruções de uso e o produto adquirido, conforme disponibilizado no site: [www.renylab.ind.br](http://www.renylab.ind.br).

## 13. GARANTIA DA QUALIDADE:

A RenyLab obedece ao disposto na Lei 8.078/90, Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- Que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento.
- Que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas.
- Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento.
- Os certificados de análise de cada lote poderão ser obtidos no site [www.renylab.ind.br](http://www.renylab.ind.br).
- Em caso de dúvidas, problemas de origem técnica, ou necessidade de obtenção dos mesmos em formato impresso entrar em contato com o SAC (Serviço de Atendimento ao Consumidor) através do telefone (32) 3331-4489 ou pelo e-mail [sac@renylib.ind.br](mailto:sac@renylib.ind.br).
- Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da RenyLab, assim como o envio de documentos em formato não impresso, serão enviados sem custos adicionais ao cliente.

## 14. DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto: Telefax: (32) 3331-4489 [sac@renylib.ind.br](mailto:sac@renylib.ind.br)

Nº DO LOTE, DATA DE VALIDADE – VIDE RÓTULO

## 15. TERMO DE GARANTIA

A RenyLab garante a troca deste produto, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado por sua Assessoria Técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A RenyLab e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho de produtos sob essas condições.

## 16. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANVISA, Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos;
2. CLSI document M22-A3, 2004. Quality Control of Commercially Prepared Microbiological Media: Approved Standard - Third Edition. Vol. 24 No.19.

3. Difco Manual, Tenth Edition. 1984. Difco Laboratories, Inc. Detroit, MI., U.S.
4. FDA (1995) Bacteriological Analytical Manual, 8 th ed. Revision A, 1998. Published by AOAC International.
5. MacConkey, A. 1900. "A note on a new médium for the growth and differentiation of the bacillus Coli communis and the bacillus Typhi abdominalis." Lancet, ii:20.
6. MacConkey, A. 1901. "Corrigendum et addendum." Zentralblatt fur Bakteriologie, 29:740.
7. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in feces. J. Hyg. 5:333-378.
8. Mackey and Sandys. 1965. Br. Med. J. 2:1286
9. Mackey and Sandys. 1966. Br. Med. J. 1:1173
10. Mazura-Reetz, Neblett and Galperin. 1979. Abstr. C179, p. 339. Abstr. Annu. Meet. American Society for Microbiology, 1979.
11. MERCK. Manual de medios de cultivo. Darmstadt, 1990.
12. NCCLS Document M22-A2, 1996. Quality Assurance for Commercially prepared Microbiological Culture Media-Second Ed.; Approved Standard.
13. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica, Sarvier, São Paulo, 2000.
14. Sandys. 1960. J. Med. Lab. Technol. 17:224.

#### 17. FABRICADO E DISTRIBUÍDO POR:

RenyLab Química e Farmacêutica Ltda.

Rodovia BR 040 km 697 Caiçaras.

CEP: 36.205-666 - Barbacena - MG – Brasil.

Tel.: 55 32 3331-4489



CNPJ: 00.562.583/0001-44.

Site: [www.renylab.ind.br](http://www.renylab.ind.br)

Responsável técnico: Renata C. Vaz de Mello.

CRF-MG: 12126

#### 18. SIMBOLOGIA

SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO	
	Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa)
	Limite de temperatura (conservar a)