

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 CO₂ 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.

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.
- 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@renylab.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@renylab.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
 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)