

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE (Opcional)

I INTRODUÇÃO

O **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** é um meio selectivo e diferencial para isolamento e diferenciação de microrganismos Gram-positivos a partir de amostras clínicas e não clínicas. O **BD BBL MacConkey II Agar** é um meio selectivo e diferencial para detecção de microrganismos coliformes e microrganismos entéricos patogénicos.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

A. BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. A cada placa, adicione 0,1 mL de uma diluição de uma cultura em meio líquido, com 18 a 24 h, calculada para conter 10^3 a 10^4 UFC/0,1 mL para as estirpes de *Streptococcus* e *Staphylococcus* e de 10^4 a 10^5 UFC/0,1 mL para a estirpe de *Proteus*. Utilizando uma espátula de vidro estéril, espalhe o inóculo.
 - b. Incube as placas a 35 ± 2 °C numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono.
 - c. Inclua placas de **BD Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II)** como controlos não selectivos para todos os microrganismos.
2. Examine as placas após 18 a 24 h, verificando a existência de crescimento, o tamanho das colónias, reacção hemolítica, pigmentação e selecção.
3. Resultados esperados

Microrganismos de controlo do CLSI	ATCC	Resultado
* <i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Crescimento, beta-hemólise
* <i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Crescimento, alfa-hemólise
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Crescimento
* <i>Proteus mirabilis</i>	12453	Inibição (parcial a completa)

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

B. BD BBL MacConkey II Agar

1. Inocule as amostras representativas com diluições das culturas listadas abaixo.
 - a. Utilizando uma cultura de *Enterococcus faecalis* em meio líquido, com 18 a 24 h, diluída de forma a produzir 10^4 a 10^5 UFC/placa, faça riscas sobre o ágar para isolamento. Para os restantes microrganismos, utilize uma cultura em meio líquido, com 18 a 24 h, diluída de forma a produzir 10^3 a 10^4 UFC/placa.
 - b. Incube as placas a 35 ± 2 °C numa atmosfera aeróbia.
 - c. Inclua as placas TSA II como controlos não selectivos para todos os microrganismos.
2. Examine as placas após 18 a 24 h, verificando se existe crescimento, o tamanho das colónias, pigmentação e selecção.
3. Resultados esperados

Microrganismos de controlo do CLSI	ATCC	Resultado	Cor das colónias
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Crescimento	Cor-de-rosa
* <i>Proteus mirabilis</i>	12453	Crescimento, inibição de crescimento excessivo (parcial)	Incolores
* <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> serotipo Typhimurium	14028	Crescimento	Incolores
* <i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Inibição (parcial)	
Estirpes adicionais utilizadas			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Crescimento	Cor-de-rosa a verde
<i>Shigella dysenteriae</i>	9361	Crescimento	Incolores a cor-de-rosa

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine as placas, conforme descrito em "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente as placas representativas, para assegurar que eventuais defeitos físicos não irão interferir com a utilização.
3. Determine o pH, através de potenciometria, à temperatura ambiente, para cumprimento da especificação de pH de $7,3 \pm 0,2$ (**BD BBL Columbia CNA With 5% Sheep Blood**) e $7,1 \pm 0,2$ (**BD BBL MacConkey II Agar**).
4. Durante o procedimento de inoculação, tenha atenção à solidez das placas.
5. Incube as placas representativas não inoculadas a 35 ± 2 °C durante 72 h e examine-as, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (Ágar Columbia CNA com sangue ovino a 5%) é um meio selectivo e diferencial utilizado para isolamento e diferenciação de microrganismos Gram-positivos a partir de materiais clínicos e não clínicos.

O **BD BBL MacConkey II Agar** é um meio ligeiramente selectivo e diferencial para detecção de microrganismos coliformes e microrganismos entéricos patogénicos.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

A. **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**

Em 1966, Ellner et al. descreveram o desenvolvimento de uma formulação de ágar de sangue, designada como Columbia Agar.¹ A base do Columbia Agar, com a qual se atinge um crescimento rápido e exuberante e reacções hemolíticas bem definidas, é utilizada como a base para meios contendo sangue e para formulações não selectivas nas quais são utilizadas várias combinações de agentes antimicrobianos como aditivos.

Ellner e os seus colegas descobriram que um meio constituído por 10 mg de colistina e 15 mg de ácido nalidíxico por litro numa base de ágar Columbia, enriquecida com sangue ovino a 5%, sustentava o crescimento de estafilococos, estreptococos hemolíticos e enterococos, embora inibisse o crescimento de espécies de *Proteus*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*. No **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**, a concentração de ácido nalidíxico foi reduzida para 10 mg/L para aumentar o isolamento de cocos Gram-positivos a partir de amostras clínicas.

B. **BD BBL MacConkey II Agar**

Nos nossos dias, estão disponíveis muitos meios de cultura para o técnico laboratorial isolar, cultivar e identificar bactérias entéricas. Um dos primeiros meios foi desenvolvido por MacConkey, tendo sido descrito pela primeira vez como uma breve nota de publicação.² O documento principal sobre o Ágar MacConkey foi publicado em 1905 e continha descrições pormenorizadas do meio e dos padrões de crescimento bacteriano obtidos.³ Esta formulação foi criada sabendo que os sais biliares são precipitados por ácidos e que alguns microrganismos entéricos fermentam a lactose, enquanto outros não possuem esta capacidade.

Desde a publicação dos primeiros documentos, a fórmula do Ágar MacConkey foi modificada muitas vezes. Uma compilação de meios de cultura publicada em 1930 apresenta uma lista de dez modificações que haviam sido efectuadas até essa altura.⁴ As modificações mais recentes incluem a utilização de aditivos (p. ex., kanamicina⁵) e a eliminação de alguns ingredientes (p. ex., violeta de cristal⁶ e vermelho neutro⁷).

O MacConkey Agar modificado (MCIC Agar) é um dos meios de cultura recomendados pela American Public Health Association (Associação Americana de Saúde Pública) para utilização na análise de água do mar e mariscos.⁸ O MacConkey Agar também é utilizado na análise microbiológica de alimentos.⁹ É recomendado para utilização com amostras clínicas que tenham probabilidade de conter flora microbiana mista, tais como amostras de urina, respiratórias e de feridas, uma vez que permite um agrupamento preliminar das bactérias entéricas e das outras bactérias Gram-negativas.¹⁰

A formulação do **BD BBL MacConkey II Agar** foi disponibilizada em 1983. Foi especialmente concebida para melhorar a inibição do crescimento excessivo de espécies de *Proteus*, para conseguir uma diferenciação mais definitiva entre as bactérias fermentadoras de lactose e as não fermentadoras, e para a promoção do crescimento dos agentes patogénicos entéricos.

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

A. **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**

O **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** obtém as suas excelentes propriedades de apoio ao crescimento a partir da combinação de peptonas preparadas a partir de digerido pancreático de caseína, digerido péptico de tecidos animais e extracto de carne. O extracto de levedura e o amido de milho são também incluídos na formulação como fontes de energia, sendo o extracto de leveduras um fornecedor de vitaminas do complexo B.

O sangue ovino permite a detecção de reacções hemolíticas e fornece o factor X (heme) necessário para o crescimento de muitas espécies bacterianas, mas não tem o factor V (dinucleótido de nicotinamida adenina, NAD), uma vez que contém NADase que destrói o NAD. Deve notar-se que este meio possui um teor relativamente elevado de hidratos de carbono e que, por isso, os estreptococos beta-hemolíticos poderão produzir uma reacção hemolítica esverdeada, que poderá ser confundida com alfa-hemólise.

A adição dos agentes antimicrobianos, colistina e ácido nalidíxico, torna o meio selectivo para microrganismos Gram-positivos. A colistina causa a ruptura das membranas celulares dos microrganismos Gram-negativos, enquanto que o ácido nalidíxico bloqueia a replicação do ADN em bactérias Gram-negativas sensíveis.¹¹

B. **BD BBL MacConkey II Agar**

O **BD BBL MacConkey II Agar** é um meio selectivo e diferencial. É apenas ligeiramente selectivo, uma vez que a concentração de sais biliares, que inibe microrganismos Gram-positivos, é baixa em comparação com outros meios em placa. O violeta de cristal também é incluído no meio para inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas, especialmente enterococos e estafilococos.

A diferenciação de microrganismos entéricos é conseguida pela combinação da lactose com o indicador vermelho neutro. São produzidas colónias incolores ou cor-de-rosa a vermelho, dependendo da capacidade do isolado para fermentar o hidrato de carbono.

VII REAGENTES

BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Digerido pancreático de caseína.....	12,0 g	Cloreto de sódio.....	5,0 g
Digerido péptico de tecidos animais.....	5,0 g	Ágar.....	13,5 g
Extracto de leveduras.....	3,0 g	Colistina.....	10,0 mg
Extracto de carne.....	3,0 g	Ácido nalidíxico.....	10,0 mg
Amido de milho.....	1,0 g	Sangue ovino, desfibrinado.....	5%

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

BD BBL MacConkey II Agar

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Digerido pancreático de gelatina.....	17,0 g	Cloreto de sódio.....	5,0 g
Digerido pancreático de caseína.....	1,5 g	Vermelho neutro.....	0,03 g
Digerido péptico de tecidos animais.....	1,5 g	Violeta de cristal.....	0,001 g
Lactose.....	10,0 g	Ágar.....	13,5 g
Sais biliares.....	1,5 g		

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

Advertências e Precauções: Para diagnóstico *in vitro*.

Caso seja observada humidade excessiva, deve inverter a parte inferior da placa sobre uma tampa inclinada e deixar secar ao ar para evitar a formação de um selo entre a parte superior e a parte inferior da placa durante a incubação.

Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"¹²⁻¹⁵ e as linhas de orientação da instituição. Após a utilização e antes de serem eliminados, os tubos preparados, os recipientes de amostras e outros materiais contaminados devem ser esterilizados.

Instruções de armazenamento: Após a receção, armazenar as placas em local escuro entre 2 e 8 °C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. As placas preparadas que forem armazenadas no seu invólucro inicial, entre 2 e 8 °C, até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculadas até ao fim do prazo de validade e incubadas durante os períodos de incubação recomendados. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto: Não utilize placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Foram criadas várias zaragatoas e recipientes para a colheita de amostras. As amostras devem ser obtidas antes de ser administrada terapêutica antimicrobiana. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório. Foram criados vários meios de conservação ou sistemas de transporte, tais como os produtos de colheita e transporte de amostras **BD BBL**, para prolongar a sobrevivência de microorganismos quando se esperar um atraso significativo entre a colheita e a repicagem definitiva.

Para obter pormenores sobre a colheita e preparação de amostras, consulte os textos apropriados.^{16,17}

O laboratório deve estar equipado com informações clínicas suficientes para permitir ao microbiologista seleccionar os meios mais adequados e as técnicas apropriadas.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido: **BD BBL** Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood and **BD BBL** MacConkey II Agar (**BD I Plate**)

Material necessário mas não fornecido: Meios de cultura auxiliares, reagentes, microorganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste: Utilize técnicas assépticas.

A superfície do ágar deve estar lisa e húmida, mas sem humidade excessiva.

Semeie a amostra, fazendo riscas sobre o ágar, o mais rapidamente possível após a receção no laboratório. Esta placa é utilizada principalmente para isolar culturas puras de amostras que contenham flora mista. Em alternativa, se o material for cultivado directamente a partir de uma zaragatoa, rode a zaragatoa sobre uma pequena área da superfície no bordo; depois, faça riscas a partir desta área inoculada.

Incube as placas, protegendo-as da luz, a 35 ± 2 °C durante 18 a 24 h. Com as amostras respiratórias, incube numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono. Com as outras amostras, incube em atmosfera aeróbia sem adicionar CO₂.

Controlo de qualidade pelo utilizador:

Cada lote de meio foi testado com microorganismos de controlo de qualidade adequados e estes testes cumprem as especificações do produto e as normas CLSI, quando aplicáveis. Como é norma, os testes de CQ devem ser realizados de acordo com os regulamentos locais, distritais, federais ou nacionais, os requisitos de acreditação e/ou os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório.

X RESULTADOS

Após a incubação, a maioria das placas mostrará uma área de crescimento confluyente. Devido ao facto de o procedimento de sementeira com riscas sobre o ágar ser, na realidade, uma técnica de "diluição", é depositado um número diminuto de microorganismos nas áreas com riscas. Consequentemente, uma ou mais destas áreas deve exibir colónias isoladas dos microorganismos presentes na amostra. É obtido um melhor isolamento devido à natureza inibidora dos meios.

A morfologia típica das colónias no **BD BBL** Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood é a seguinte:

Estreptococos (não grupo D)	Pequenas, brancas a acinzentadas. Beta ou alfa-hemólise.
Enterococos (grupo D)	Pequenas, mas maiores do que as dos estreptococos do grupo A, azul-acinzentadas. Beta ou alfa-hemólise.
Estafilococos	Grandes, brancas a acinzentadas ou bege a amarelas, sem hemólise
Micrococos	Grandes, brancas a cinzentas ou amarelas a laranja, com ou sem hemólise
Corinebactérias	Pequenas a grandes, brancas a cinzentas ou amarelas, com ou sem hemólise
<i>Candida</i>	Pequenas, brancas
<i>Listeria monocytogenes</i>	Pequenas a grandes, cinzento azulado, com beta-hemólise
Bactérias Gram-negativas.....	Ausência de crescimento a crescimento ligeiro

A morfologia de colónias típica em **BD BBL MacConkey II** é a seguinte:

E. coli..... Cor-de-rosa a rosa avermelhado (pode estar rodeada por uma área de bÍlis precipitada)
Enterobacter/Klebsiella Mucóide, cor-de-rosa
Proteus Incolor, o crescimento excessivo em áreas de colónias isoladas é inibido
Salmonella..... Incolor
Shigella..... Incolor
Pseudomonas Irregular, transparente a cor-de-rosa
Bactérias Gram-positivas Ausência de crescimento ou crescimento ligeiro

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Tem sido referido que o crescimento de algumas *Enterobacteriaceae* e de *Pseudomonas aeruginosa* é inibido no MacConkey Agar, quando são incubadas numa atmosfera com CO₂.¹⁸

Nem todas as estirpes de *E. coli* fermentam a lactose.

Alguns testes de diagnóstico podem ser executados com a placa primária. Contudo, é recomendada uma cultura pura para os testes bioquímicos e para outros procedimentos de identificação. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.¹⁹⁻²³

Raramente um único meio é adequado para detectar todos os microrganismos com potencial significado clínico numa amostra. Deve reconhecer-se que os microrganismos habitualmente sensíveis a um agente antimicrobiano presente num meio selectivo podem ser totalmente ou apenas parcialmente inibidos, dependendo da concentração do agente, das características da estirpe microbiana e do número de microrganismos do inóculo. Os microrganismos que são habitualmente resistentes a um agente antimicrobiano não serão inibidos. Por isso, as culturas de amostras que cresceram em meios selectivos devem ser comparadas com amostras que cresceram em meios não selectivos, para obter informações adicionais e ajudar a garantir o isolamento de agentes patogénicos potenciais.

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood

Antes de serem comercializados, todos os lotes de **BD BBL Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** são testados relativamente às características do desempenho. Amostras representativas do lote são semeadas, espalhando 0,1 mL de inóculo das seguintes culturas: *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 6305) e *S. pyogenes* (ATCC 19615). Os inóculos para o *S. aureus*, *S. pneumoniae* e *S. pyogenes* são diluídos para produzirem 10³ a 10⁴ unidades formadoras de colónias (UFC) por 0,1 mL; o inóculo para o *P. mirabilis* é diluído para produzir 10⁴ a 10⁵ UFC/0,1 mL. Após a inoculação, as placas são incubadas a 35 ± 2 °C, numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono. Após 18 a 24 h de incubação, o *S. aureus*, *S. pneumoniae* e *S. pyogenes* apresentam um crescimento moderado a intenso com morfologia das colónias, pigmentação e reacções hemolíticas típicas, enquanto o *P. mirabilis* não apresenta crescimento ou apresenta um crescimento moderado, sem excesso de colónias.

BD BBL MacConkey II Agar

Antes de serem comercializados, todos os lotes de **BD BBL MacConkey II Agar** são testados relativamente às características do desempenho. Amostras representativas do lote são inoculadas, fazendo riscas sobre o ágar, com as seguintes culturas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (ATCC 12453), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Shigella dysenteriae* (ATCC 9361) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). O inóculo para *E. faecalis* é diluído para produzir 10⁴ a 10⁵ unidades formadoras de colónias (UFC) por placa; os inóculos para todos os outros microrganismos são diluídos para produzirem 10³ a 10⁴ UFC/placa. Após a inoculação, as placas são incubadas a 35 ± 2 °C, numa atmosfera aeróbia. Após 18 a 24 h de incubação, as colónias de *E. coli* ficam de cor rosa-avermelhado e podem ficar rodeadas por um precipitado biliar; o *P. mirabilis* exibe um crescimento moderado a intenso com colónias incolores, com inibição do crescimento excessivo de colónias; a *P. aeruginosa* mostra áreas de crescimento confluyente que podem exibir uma pigmentação verde a verde-amarelada, enquanto as colónias individuais apresentam pigmentação cor-de-rosa a verde; a *Salmonella* Typhimurium exibe um crescimento moderado a intenso de colónias incolores; a *S. dysenteriae* exibe um crescimento de colónias incolores a cor-de-rosa; o *E. faecalis* é total a parcialmente inibido (crescimento moderado) e as colónias podem ser cor-de-rosa.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat. Descrição

- 221600 **BD BBL** Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood and **BD BBL** MacConkey II Agar **BD I Plate**, emb. de 20 placas **CE**
221601 **BD BBL** Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood and **BD BBL** MacConkey II Agar **BD I Plate**, caixa de 100 placas

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Ellner, P.D., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:502–504.
2. 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.
3. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. *J. Hyg.* 5:333–379.
4. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
5. Andersen, R.L., D.R. Graham, and R.E. Dixon. 1981. Rapid presumptive identification of *Citrobacter diversus* as an aid in controlling infections. *J. Clin. Microbiol.* 14:161–164.
6. World Health Organization. 1963. International standards for drinking waters, 7th ed. Churchill Ltd. London.
7. Walters, E.W., M.L. Cooper, and H.M. Keler. 1954. The detection microscopically of colonies of *Shigella* in stool cultures. *J. Bacteriol.* 67:247–251.
8. Greenberg, A.E., and D.A. Hunt (ed.). 1985. Laboratory procedures for the examination of seawater and shellfish, 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
9. Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
10. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification, p. 442–458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Estevez, E.G. 1984. Bacteriologic plate media: review of mechanisms of action. *Lab. Med.* 15:258–262.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
13. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53–80.
14. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
15. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262*, 17/10/2000, p. 0021–0045.
16. Isenberg, H.D., F.D. Schoenknecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating ed., S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
17. Miller, J.M. and H.T. Holmes. 1999. Specimen collection, transport, and storage, p.33–63. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
18. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.
19. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 5th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
20. MacFaddin, J.F. 2000. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
21. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
22. 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.
23. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual™ of determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Assistência Técnica e Suporte: contacte o representante local da BD ou visite www.bd.com.



 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2017 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.