



BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** (Ágar de MacConkey II/Ágar Colombia CNA Melhorado II com sangue de ovelha a 5%) consiste num meio melhorado utilizado para o isolamento seletivo de bactérias gram-negativas e gram-positivas em amostras clínicas.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

O MacConkey Agar é uma das primeiras formulações (publicação em 1900 por MacConkey) para o isolamento, cultura e identificação de *Enterobacteriaceae* e determinados organismos não fermentadores. Mais tarde, este meio foi modificado várias vezes.^{1,2}

A formulação MacConkey II Agar foi concebida em 1987 para potenciar a inibição da proliferação da espécie *Proteus*, para conseguir uma diferenciação mais definitiva dos organismos fermentadores e não fermentadores da lactose e para obter um melhor crescimento das bactérias entéricas. No MacConkey II Agar, as peptonas fornecem os nutrientes. O violeta cristal é incluído para inibição das bactérias gram-positivas, especialmente os enterococos e os estafilococos. A diferenciação de microrganismos entéricos faz-se através da combinação de lactose e do indicador de pH vermelho neutro. São produzidas colónias incolores ou cor-de-rosa a vermelho, dependendo da capacidade do isolado para fermentar o hidrato de carbono.³⁻⁵

Em 1966, Ellner et al. referiram o desenvolvimento de uma nova formulação de ágar de sangue, designada como Columbia Agar.⁶ Este meio, o qual proporciona colónias de maior dimensão e um crescimento mais exuberante do que nas bases de ágar de sangue comparáveis, é utilizado para os meios que contêm sangue e para formulações seletivas. Ellner et al. descobriram que um meio com 10 mg de colistina e 15 mg de ácido nalidíxico por litro numa base de ágar de Columbia, enriquecido com sangue de ovelha a 5%, suporta o crescimento de estafilococos, estreptococos hemolíticos e enterococos e, ao mesmo tempo, inibe o crescimento das espécies *Proteus*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*.⁶ Ao longo dos anos, a resistência das bactérias a agentes antimicrobianos tem aumentado. Tal é particularmente aplicável aos bastonetes gram-negativos que deveriam ser inibidos, mas apresentam frequentemente crescimento no Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Ágar com sangue de ovelha a 5%). No Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, é incluída uma pequena quantidade de aztreonam para manter uma boa seletividade neste meio e a concentração de ácido nalidíxico foi reduzida para 5,5 mg/L de modo a aumentar o isolamento de cocos gram-positivos, em particular os estafilococos. A concentração de colistina não é alterada. O aztreonam consiste num monobactamo com atividade apenas contra a maioria das bactérias gram-negativo, os microrganismos gram-positivo não são afetados.⁷⁻⁹

O sangue de ovelha permite a deteção de reações hemolíticas que são particularmente importantes no diagnóstico presuntivo de estreptococos.¹⁰

A vantagem principal do Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood em relação ao Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood consiste no melhor crescimento de estafilococos, sendo estes detetados com maior frequência após 18 a 24 horas de incubação, e melhor inibição de bactérias gram-negativas resistentes, em particular *Proteus* spp.

A combinação destes dois meios numa biplaca (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) é utilizada para o isolamento seletivo de bactérias gram-negativas e gram-positivas em amostras clínicas.

REAGENTES

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

Fórmulas* por litro de água purificada

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Hidrolisado pancreático de gelatina	17,0 g	Peptonas	20,0 g
Hidrolisado pancreático de caseína	1,5	Extrato de levedura	3,5
Hidrolisado péptico de tecido animal	1,5	Hidrolisado trípico de coração bovino	3,0
Lactose	10,0	Amido de milho	1,0
Sais biliares	1,5	Cloreto de sódio	5,0
Cloreto de sódio	5,0	Colistina	10,0 mg
Vermelho neutro	0,03	Ácido nalidíxico	5,5
Violeta cristal	0,001	Aztreonam	3,0
Ágar	13,5	Sangue de ovelha, desfibrinado	5%
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

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

PRECAUÇÕES

IVD . Apenas para uso profissional. 

Não utilize placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consulte o documento **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para obter informações sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após receção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original, até ao momento da utilização. Evite congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até terminar o prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 e, quando uma destas pilhas é aberta, as respetivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8°C.

CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Efetue a inoculação de amostras representativas com as seguintes estirpes (para obter mais detalhes, consulte o documento **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Proceda à incubação das placas, de preferência em posição invertida, em condições aeróbias e a uma temperatura entre 35 e 37°C, durante 18 a 24 h.

Estirpes	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescimento bom a excelente; colónias cor-de-rosa a vermelhas com precipitação biliar	Inibição completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Crescimento bom a excelente; colónias bege-acastanhado, proliferação inibida	Inibição completa
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibição (parcial a) completa	Crescimento bom a excelente; pequenas colónias cinzentas
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibição completa	Colónias brancas-amareladas com beta-hemólise
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Não testado	Pequenas colónias acinzentadas; beta-hemólise
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Não testado	Pequenas colónias verde- acinzentadas; alfa-hemólise
Sem inoculação	Cor-de-rosa claro, ligeiramente opalescente	Vermelho, opaco

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (biplacas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlado.

Material não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Tipos de amostra

Os meios contidos nesta biplaca são utilizados para o isolamento seletivo de muitas bactérias gram-negativas e gram-positivas de todos os tipos de amostras clínicas (consultar também **CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**).

Procedimento do teste

Semeie a amostra, fazendo riscas sobre o ágar, o mais rapidamente possível após a receção no laboratório. A placa para cultura é usada principalmente para isolar culturas puras provenientes de amostras que contêm flora mista.

Para inocular esta biplaca com amostras de zaragatoas, faça rolar a zaragatoa sobre uma pequena área do Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood e, em seguida, sobre uma pequena área do MacConkey II Agar. Utilizando uma ansa nova para cada um dos meios, risque para isolamento a partir das áreas inoculadas. Realize a incubação em ar ambiente durante 24 a 48 horas e a 35 – 37°C. Não se recomenda a incubação deste produto numa atmosfera aeróbia enriquecida com dióxido de carbono, visto que os resultados no MacConkey Agar podem variar dos obtidos com a incubação em ar ambiente.¹¹

Visto que existem organismos gram-positivos e gram-negativos inibidos nos dois meios desta biplaca, ou que não crescem com ar ambiente, recomenda-se a inclusão de uma placa de ágar de sangue não seletivo, p.ex., **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, a qual deve ser incubada durante 24 a 48 horas a 35 – 37°C numa atmosfera aeróbia enriquecida com dióxido de carbono.

Resultados

Os resultados típicos de crescimento com **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** são os seguintes:

Microrganismos	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Cor-de-rosa a vermelho-rosado (podem estar cercadas por uma zona de precipitação biliar)	Inibição (parcial a) completa
<i>Enterobacter</i>	Mucóide, cor-de-rosa	Inibição (parcial a) completa
<i>Klebsiella</i>	Mucóide, cor-de-rosa	Inibição (parcial a) completa
<i>Proteus</i>	Incolor, proliferação inibida	Inibição (parcial a) completa; proliferação inibida
<i>Salmonella</i>	Incolor	Inibição completa
<i>Shigella</i>	Incolor	Inibição completa
<i>Pseudomonas</i>	Irregular, incolor a cor-de-rosa	Inibição (parcial a) completa
Estafilococos	Inibição parcial a completa	Crescimento; colónias pequenas a médias, brancas-amareladas, com ou sem beta-hemólise
Estreptococos	Inibição completa	Crescimento; colónias diminutas a médias, com ou sem alfa ou beta-hemólise
Enterococos	Inibição parcial a completa	Crescimento; colónias diminutas a médias; podem apresentar rebordos cinzentos, tipicamente não hemolíticas

Nestes meios, também pode ocorrer o crescimento de outras bactérias gram-negativas e gram-positivas não listadas acima. Para obter mais detalhes e informações sobre a interpretação do crescimento, consulte a bibliografia.^{4,10,12}

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

BD MacConkey II Agar é um dos meios padrão utilizados para a colocação primária de amostras clínicas em placas e para uma variedade de materiais não clínicos. Neste meio, verifica-se o crescimento de todos os organismos da família *Enterobacteriaceae* e uma variedade de outros bastonetes gram-negativos, p.ex., *Pseudomonas* e gêneros relacionados. Não ocorre crescimento de organismos não fermentadores ou outros bastonetes gram-negativos suscetíveis aos ingredientes seletivos neste meio. Consulte os respectivos capítulos na bibliografia antes de utilizar o meio para organismos específicos.^{4,10,12}

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood é um meio seletivo melhorado para o isolamento e cultura de muitos microrganismos gram-positivos de crescimento aeróbio como, por exemplo, os estreptococos, os estafilococos, *Listeria* spp, entre outros, a partir de amostras clínicas. Este meio permite uma detecção mais rápida de estafilococos, enterococos e estreptococos e uma melhor inibição de bactérias gram-negativas, em comparação com o meio Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

Em avaliações internas do desempenho, mais de 38 estirpes (isolados clínicos e estirpes de coleção) de bactérias gram-positivas pertencentes às espécies indicadas no Quadro 1 e muitas bactérias gram-negativas foram testadas relativamente ao crescimento no **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood (=COL)** foi utilizado como um meio de crescimento de referência. As placas foram incubadas durante 18 a 24 h a uma temperatura entre 35 e 37°C numa atmosfera aeróbia.

As estirpes *Proteus* resistentes a quinolona foram completamente inibidas no Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, mas apresentaram um crescimento elevado no MacConkey II Agar e Columbia Agar.

As dimensões das colónias e zonas hemolíticas no Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood foram comparáveis às obtidas no Columbia Agar. Todas as estirpes gram-positivas, com exceção da *Corynebacterium diphtheriae*, apresentaram crescimento no Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood dentro de 18 – 20 horas de incubação aeróbia e foram completamente inibidas no MacConkey II Agar. A *C. diphtheriae* exigiu 42 horas de incubação. Os testes incluíram estafilococos que requereram 2 dias de incubação no Columbia CNA Agar convencional.

Quadro 1: Espécies gram-positivas testadas e isoladas no **BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood** (incubação aeróbia)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus</i> do grupo C
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus</i> do grupo G
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus xylosum</i>	
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	

* incubação de 48 horas necessária para a detecção no **CNA-II** e **CNA**.

Limitações: Neste meio, pode ocorrer o crescimento de bactérias gram-negativas que apresentam resistência aos ingredientes seletivos.

As espécies de *Candida* e outros fungos não são inibidos neste meio.

Embora sejam bactérias gram-positivas, os formadores de esporos aeróbios, como o *Bacillus* spp., podem ser inibidos no Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

As corineobactérias podem exigir 42 a 48 horas de incubação em Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

O crescimento de alguns estreptococos, p. ex., *Streptococcus intermedius* e *Streptococcus milleri* requer uma atmosfera anaeróbia ou enriquecida com CO₂.

A base de Columbia Agar tem um teor relativamente alto de hidratos de carbono. Por este motivo, os estreptococos beta-hemolíticos podem produzir uma reação hemolítica esverdeada, a qual pode ser confundida com alfa-hemólise no Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Embora seja possível obter crescimento de uma grande variedade de bactérias gram-negativas e gram-positivas num dos meios contidos em **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**, recomenda-se a inclusão de um meio não seletivo para o isolamento primário de todos os agentes patogénicos potencialmente presentes numa amostra.¹⁰ O **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** é um meio em placa primário não seletivo frequentemente utilizado e que pode ser utilizado para esta finalidade. Para o isolamento de organismos exigentes, como *Neisseria* ou *Haemophilus*, deve também ser inoculada com a amostra uma placa de ágar de chocolate, p.ex., **BD Chocolate Agar (GC II Agar com IsoVitalX)**, se organismos deste tipo forem esperados.

Foi observado que algumas *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa* são inibidas no MacConkey Agar quando incubadas numa atmosfera enriquecida com CO₂.¹¹ Por este motivo, o **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** não deve ser incubado numa atmosfera enriquecida com CO₂.

Foi observado um esbatimento da cor do meio MacConkey II Agar em algumas placas com crescimento elevado de estafilococos no meio Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood e sem crescimento no MacConkey II Agar. Tal não apresenta qualquer efeito negativo no isolamento nem na cor típica das colónias de bactérias gram-negativas no MacConkey II Agar.

Embora seja possível realizar alguns testes de diagnóstico diretamente nestes meios, são necessários testes bioquímicos e, se indicado, imunológicos em culturas puras para obter uma identificação completa dos isolados.

BIBLIOGRAFIA

1. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
4. Farmer, J.J., III., K.D. Boatwright, and J.M. Janda 2007. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. 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.
6. 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.
7. Wood, W., G. Harvey, E.S. Olson, and T.M. Reid. 1993. Aztreonam selective agar for Gram positive bacteria. J. Clin. Pathol. 46: 769-771.
8. Wiedemann, B., and B. A. Atkinson. 1986. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends. In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 962-1208. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
9. von Graevenitz, A. 1986. Use of antimicrobial agents as tools in epidemiology, identification, and selection of microorganisms. In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 723-738. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
10. Spellerberg, B., Brandt, C. 2007. *Streptococcus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Mazura-Reetz, G. T. Neblett, and J. M. Galperin. 1979. MacConkey Agar: CO₂ vs. ambient incubation. Abst. Ann. Mtg. American Society for Microbiology. C179.
12. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, Clinical microbiology procedures handbook, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD MacConkey II Agar / BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

N.º de cat.

Descrição

REF 257574

Meios em placas prontos a usar, 20 cpu

REF 257584

Meios em placas prontos a usar, 120 cpu

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter mais informações, contacte o representante local da BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC é uma marca comercial da American Type Culture Collection

BD, o logótipo BD e Stacker são marcas comerciais da Becton, Dickinson and Company.

© 2015 Becton, Dickinson and Company