



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

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD Mac Conkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (agar de Columbia CNA com sangue de ovelha a 5%) (**Biplate**) é utilizado para o isolamento selectivo de bactérias gram-negativas e gram-positivas provenientes de amostras clínicas.

### PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

O MacConkey Agar é uma das primeiras formulações (publicada em 1900 por MacConkey) para o isolamento, cultivo e identificação de *Enterobacteriaceae* e alguns organismos não fermentadores.<sup>1,2</sup> Posteriormente, este meio foi modificado várias vezes.<sup>3,4</sup>

O MacConkey Agar é apenas ligeiramente selectivo uma vez que a concentração de sais biliars, 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.<sup>4-6</sup> O MacConkey Agar também é utilizado no exame microbiológico dos alimentos.<sup>7</sup>

A formulação de 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 um melhor desenvolvimento das bactérias entéricas. No MacConkey II Agar, as peptonas fornecem os nutrientes. O cristal violeta é incluído para inibir as 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 transparentes ou cor-de-rosa a vermelho, dependendo da capacidade do isolado para fermentar o hidrato de carbono.<sup>4</sup>

Ellner et al. em 1966 referiram o desenvolvimento de uma nova formulação de sangue de agar, que foi designada como agar de Columbia.<sup>8</sup> Este meio, onde se verifica a existência de colónias de maior dimensão e um crescimento mais exuberante do que nas bases de agar de sangue comparáveis, é utilizado para os meios que contêm sangue e para formulações selectivas. Ellner et al. descobriram que um meio com 10 mg de colistina e 15 mg de ácido nalidíxico por litro numa base de agar de Columbia, enriquecido com sangue de ovelha a 5%, suporta o crescimento de estafilococos, estreptococos hemolíticos e estreptococos e, ao mesmo tempo, inibe o crescimento das espécies de *Proteus*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*.<sup>8,9</sup> O agar de Columbia fornece um meio com uma base altamente nutritiva. A adição de agentes antimicrobianos, colistina e ácido nalidíxico torna o meio selectivo relativamente a microrganismos gram-positivos, em especial os estreptococos e os estafilococos. O sangue de ovelha permite a detecção de reacções hemolíticas.<sup>4,5,9</sup>

A combinação destes dois meios numa biplaca é utilizado para o isolamento selectivo de bactérias gram-negativas e gram-positivas provenientes de amostras clínicas.

## REAGENTES

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

Fórmulas\* por Litro de Água Purificada

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood	
Hidrolisado pancreático de gelatina	17,0 g	Peptonas	20,0 g
Hidrolisado pancreático de caseína	1,5	Extracto de leveduras	3,5
Hidrolisado péptico de tecido animal	1,5	Hidrolisado triptico de coração de 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	0,01
Vermelho neutro	0,03	Ácido nalidíxico	0,015
Cristal violeta	0,001	Agar	15,0
Agar	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 utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

## ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até ao 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 respectivas 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

Inocular amostras representativas com as seguintes estirpes (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incubar atmosfera aeróbia durante 24 h, a uma temperatura entre 35 e 37°C.

Estirpes	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescimento bom a excelente; colónias cor-de-rosa a vermelhas com precipitados biliares	Inibição completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Crescimento bom a excelente, colónias beges a acastanhadas; proliferação inibida	Inibição parcial a completa, proliferação inibida
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	Crescimento bom a excelente; colónias beges	Não testado
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Crescimento bom a excelente; colónias beges	Não testado

<b>Estirpes</b>	<b>MacConkey II Agar</b>	<b>Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood</b>
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibição (parcial a) completa	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas de pequena dimensão
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inibição completa	Colónias brancas a amareladas com beta-hemólise
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Não testado	Colónias acinzentadas de pequena dimensão; beta-hemólise
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Não testado	Colónias verdes a cinzentas de pequena dimensão; alfa-hemólise
Não inoculadas	Cor-de-rosa claro, ligeiramente opalescente	Vermelho (cor de sangue)

## **PROCEDIMENTO**

### **Materiais fornecidos**

**BD Mac Conkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (biplacas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlados.

### **Materiais não fornecidos**

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

### **Tipos de amostra**

Os meios contidos nesta biplaca são utilizados para o isolamento selectivo de várias bactérias gram-negativas e gram-positivas provenientes de todo o tipo de amostras clínicas (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**).<sup>10</sup>

### **Procedimento do teste**

Espalhar a amostra para cultura imediatamente após esta ser recebida no laboratório. A placa para cultura é usada principalmente para isolar culturas puras das amostras que contêm flora mista.

Para inocular esta biplaca com amostras a partir de zaragatoas, rodar primeiro a zaragatoa numa área pequena de Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood e, posteriormente, sobre uma área pequena de MacConkey II Agar. Utilizando uma ansa nova para cada meio, espalhar para obter o isolamento a partir das áreas inoculadas. Incubar numa atmosfera ambiente durante 24 a 48 h a uma temperatura de  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ . Não se recomenda a inoculação do MacConkey Agar numa atmosfera aeróbia enriquecida com dióxido de carbono.<sup>11</sup>

Uma vez que existem organismos gram-positivos e gram-negativos que são inibidos em ambos os meios, é necessário incluir uma placa de agar de sangue não selectivo como, por exemplo, **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (agar de Columbia com sangue de ovelha a 5%) que é incubado durante 24 a 48 h a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  numa atmosfera aeróbica enriquecida com dióxido de carbono.

### **Resultados**

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

Organismos	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood
<i>E. coli</i>	Cor-de-rosa a vermelhas (podem estar cercadas por uma zona de precipitação biliar)	Inibição parcial a completa
<i>Enterobacter</i>	Mucóides, cor-de-rosa	Inibição parcial a completa
<i>Klebsiella</i>	Mucóides, cor-de-rosa	Inibição parcial a completa
<i>Proteus</i>	Incolores, proliferação inibida	Inibição parcial a completa; proliferação inibida
<i>Salmonella</i>	Incolores	Inibição parcial a completa
<i>Shigella</i>	Incolores	Inibição parcial a completa
<i>Pseudomonas</i>	Irregulares, incolores a cor-de-rosa	Inibição parcial a completa
Estafilococos	Inibição parcial a completa	Crescimento; colónias brancas a amarelas, de pequena a média dimensão, com ou sem beta-hemólise
Estreptococos	Inibição completa	Crescimento; colónias de pequena a média dimensão, com ou sem hemólise beta ou alfa
Enterococos	Inibição parcial a completa	Crescimento; colónias de pequena a podem ter limites acinzentadas, normalmente não hemolíticas

Nestes meios, também pode ocorrer o crescimento de outras bactérias gram-negativas e gram-positivas não listadas acima. Para mais detalhes e informações sobre a interpretação do crescimento, consultar a bibliografia.<sup>5,9</sup>

São necessários outros testes bioquímicos e, se indicado, imunológicos utilizando culturas puras para uma identificação completa dos isolados.<sup>5,6,9</sup>

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O 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, desenvolver-se-ão todos os organismos da família das *Enterobacteriaceae* e uma variedade de outros bastonetes gram-negativos como, por exemplo, as *Pseudomonas* e géneros relacionados.<sup>5-7,9</sup>

Os organismos não fermentadores ou outros bastonetes gram-negativos sensíveis aos ingredientes selectivos não se desenvolvem neste meio. Consultar os respectivos capítulos na bibliografia antes de utilizar o meio para organismos específicos.<sup>5,9,10</sup>

Foi referido que algumas *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa* são inibidas pelo MacConkey Agar quando incubadas numa atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub>.<sup>11</sup>

O Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood é um meio padrão para o isolamento e cultivo de muitos microorganismos gram-positivos de crescimento aeróbio como, por exemplo, os estreptococos, estafilococos, corineformes, *Listeria* spp entre outros.<sup>5,9</sup>

Neste meio, também pode ocorrer o crescimento de bactérias gram-negativas que apresentam resistência aos ingredientes selectivos.

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 agar Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

É necessário realçar que este meio contém um teor de hidratos de carbono relativamente elevado e, por essa razão, os estreptococos beta-hemolíticos poderão produzir uma reacção hemolítica esverdeada que pode ser confundida com a alfa-hemólise.

Embora se verifique o crescimento de uma grande variedade de bactérias gram-negativas e gram-positivas num dos meios contidos em **BD Mac Conkey II Agar / Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)**, é necessário incluir um meio não selectivo para o isolamento primário de todos os agentes patogénicos que poderão estar presentes na amostra.<sup>10</sup> O **BD**

**Columbia Agar with 5% Sheep Blood** consiste num meio primário frequentemente utilizado em placas e não selectivo que pode ser utilizado para este efeito. Para o isolamento de organismos exigentes, como *Neisseria* ou *Haemophilus*, deve inocular-se também uma placa de agar de chocolate como, por exemplo, **BD Chocolate Agar (agar GC II com IsoVitaleX)** com a amostra caso se preveja a existência deste organismos.

Embora possam ser realizados alguns testes de diagnóstico directamente nestes meios, é necessária a realização de testes bioquímicos para uma completa identificação dos isolados e, se indicado, a realização de testes imunológicos usando culturas puras.

## BIBLIOGRAFIA

1. 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.
2. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg. 5:333-379.
3. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
6. Farmer, J.J., III. 2003. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup>ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
8. 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.
9. 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.
10. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Mazura-Reetz, G. T. Neblett, and J. M. Galperin. 1979. MacConkey Agar: CO<sub>2</sub> vs. ambient incubation. Abst. Ann. Mtg. American Society for Microbiology. C179.

## EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

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

No. de cat. 254447

Meios em placas prontos a usar, 20 placas

## INFORMAÇÕES ADICIONAIS

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



### BD Diagnostic Systems

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

### BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292

<http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company