

1. FINALIDADE:

O ágar MacConkey é um 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

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 *Salmonella* e *Shigella*, 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. AMOSTRAS:

Amostras biológicas, sem restrições de tipo.

4. APRESENTAÇÃO:

Pacote com 10 placas 90x15 lisas ou bipartidas.

5. COMPOSIÇÃO:

Peptona de gelatina	17 gr/L
Peptonas (carne/caseína)	3 gr/L
Lactose monohidratada	10 gr/L
Sais biliares nº3	1,5 gr/L
Cloreto de sódio	5 gr/L
Vermelho neutro	0,03 gr/L
Cristal violeta	0,001 gr/L
Agar	13,5 gr/L

6. ARMAZENAMENTO:

Este produto deve ser armazenado em temperatura de 2 a 8°C, imediatamente após seu recebimento.

Para fins de transporte, este produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72 horas.

7. PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Produto para uso diagnóstico "in vitro";
- A utilização deste produto deve ser de exclusividade de profissionais capacitados;
- Na presença de aparecimento de quaisquer estruturas, que remetam a possível contaminação, o produto deve ser imediatamente descartado;
- Não utilize produtos com o prazo de validade expirado ou com selo de qualidade rompido;
- Antes de descartar o material usado, autoclar a 121°C por 15 minutos.

8. MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS:

- Estufa bacteriológica;
- Swab;
- Alça bacteriológica.

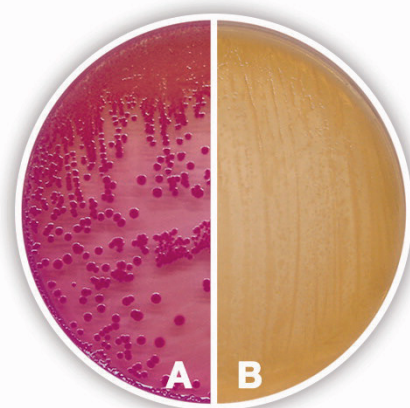
9. PROCEDIMENTO TÉCNICO:

- Retirar o produto da refrigeração e, em ambiente asséptico, separar as placas a serem utilizadas, devolvendo o restante ao refrigerador;
- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura, ou deixa-las em temperatura ambiente, até se apresentarem secas;
- Usando alça bacteriológica estéril inocular a amostra sobre a superfície da placa conforme técnica adequada;
- Incubar o material em estufa bacteriológica entre 35-37°C por 18-24h;
- Após a incubação, avaliar o padrão de crescimento e a fermentação ou não da lactose.

10. RESULTADOS ESPERADOS

Morfologias típicas das colônias em ágar MacConkey:

Microrganismo	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 ssp.</i> , <i>Klebsiella ssp.</i>	Mucóide, colônias cor-de-rosa, dimensão grande
<i>Salmonella ssp.</i> , <i>Shigella ssp.</i>	Colônias incolores. Cor do meio: cor-de-laranja a âmbar, devido a redução de pH no meio. Dimensão média a grande
<i>Pseudomonas ssp.</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



A- *Enterobacter aerogenes*

B- *Shigella dysenteriae*

11. LIMITAÇÕES DO MÉTODO:

- 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.
- 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. 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.
- 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.

12. 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.

- *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.

13. GARANTIA DA QUALIDADE:

- A RenyLab obedece o 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 equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza. 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 podem ser obtidos no site www.renylab.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente 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 serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. ANVISA, Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos- Módulo IV;
2. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica, Sarvier, São Paulo, 2000.
3. MERCK. Manual de meios de cultivo. Darmstadt, 1990.
4. Difco Manual, Tenth Edition. 1984. Difco Laboratories, Inc. Detroit, MI., U.S.
5. FDA (1995) Bacteriological Analytical Manual, 8 th ed. Revision A, 1998. Published by AOAC International.
6. CLSI document M22-A3, 2004. Quality Control of Commercially Prepared Microbiological Media: Approved Standard - Third Edition. Vol. 24 No.19.
7. MacConkey, A. 1900. "A note on a new medium for the growth and differentiation of the *bacillus Coli communis* and the *bacillus Typhi abdominalis*." Lancet, ii:20.
8. MacConkey, A. 1901. "Corrigendum et addendum." Zentralblatt fur Bakteriologie, 29: 740.
9. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in feces. J. Hyg.. 5:333-378.
10. Mazura-Reetz, Neblett and Galperin. 1979. Abstr. C179, p. 339. Abstr. Annu. Meet. American Society for Microbiology, 1979.



Fabricado e distribuidor 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
www.renylab.ind.br
 Responsável técnico: Dr. Renê Vaz de Mello.
 CRF-MG:2709
 M.S: 80002670074