ÁGAR MAC CONKEY

Finalidade:
O ágar MacConkey é um meio diferencial seletivo utilizado para o isolamento e diferenciação de enterobactérias e uma variedade de outros bastonetes gram-negativos provenientes de amostras clínicas. Neste meio se pode diferenciar bactérias fermentadoras da lactose, através da formação de colônias róseas, das bactérias não fermentadoras da lactose, com formação de colônias incolores.

Registro ANVISA:
10097010134

Apresentação:
540147 - MAC CONKEY-AGAR-20mL-PL 90X15-PC 10PL
540196 - MAC CONKEY-AGAR-2X10mL-BIPLACA-10PL
530106 - MAC CONKEY-AGAR-FR 100mL

LB 172067
Rev. 12 – 08/2024

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, encontram-se disponíveis muitos meios de cultura para o isolamento, cultura e identificação de enterobactérias e microrganismos não fermentadores. Um dos primeiros meios com esta capacidade, e ainda com excelente desempenho, 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.
Este meio é recomendado para utilização com amostras clínicas com probabilidade de conter microbiota mista como, por exemplo, a urina, fezes, vias respiratórias, feridas, secreções e outras fontes, por permitir um agrupamento preliminar de bactérias entéricas e outras bactérias gram-negativas fermentadoras e não fermentadoras da lactose, com o objetivo de isolar bactérias gram-negativas.
Bactérias gram-negativas geralmente se desenvolvem bem neste meio e se diferenciam por sua habilidade em fermentar lactose. Linhagens fermentadoras de lactose crescem como colônias vermelhas ou rosadas e podem ser circundadas por uma área de precipitação ácida de bile. A cor vermelha é devida à produção de ácido pela degradação da lactose, absorção do vermelho neutro e uma subsequente mudança na coloração quando o pH do meio cai abaixo de 6,8. Linhagens não-fermentadoras de lactose, como *Shigella* spp. e *Salmonella* spp., são incolores, transparentes e tipicamente não alteram a aparência do meio.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/ L
Hidrolisado pancreático de gelatina	17.0
Hidrolisado péptico de tecido animal	1.5
Hidrolisado pancreático de caseína	1.5
Lactose	10.0
Sais Biliares	1.5
Cloreto de sódio	5.0
Ágar Base	15.0
Cristal violeta	0.001
Água deionizada	1L
pH 7,1 ±0,2 a 25ºC	

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho do produto.

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras
- Podem ser utilizadas amostras clínicas como: urina, fezes, secreções e outros fluídos corpóreos, materiais biológicos diversos, amostras ambientais ou quaisquer outras amostras passíveis de conter os microrganismos com capacidade de se desenvolver neste produto.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio
A diferenciação de bacilos gram negativos fermentadores de lactose ocorre pela liberação de íons H+ no meio, que diminui o pH, alterando a cor do indicador para rosa, portamo as colônias lacotose positiva se mostram com coloração rosa e as colônias lactose negativa incolores. A presença do cristal violeta e de sais biliares inibem o crescimento dos cocos gram positivos, bem como a formação do *swarming* das espécies de *Proteus*.

b- Armazenamento e estabilidade
Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório os frascos devem ser armazenados em temperatura ambiente e as placas de 2 a 8ºC, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.
Considerando que este produto é gelatinoso e sua composição pode apresentar até 80% de água, ao sofrer variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) todo meio de cultura pode gerar condensação, de pouca a muita, acumulando água na placa. Recomenda-se guardar as placas com os meios de cultura virados para cima e, quando necessário, desprezar a água acumulada e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura antes de sua utilização.
Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa (± 37ºC) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do meio, expor o produto a contaminações ou gerar um acúmulo de água excessivo.
A água acumulada por condensação, ocasionada por alguma variação de temperatura, não influência no desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento ou diminuição de espessura.
Devido a presença de substratos sensíveis, recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

c- Precauções e cuidados especiais
- O produto destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;
- Não utilizar placas com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;
- O procedimento de descarte do produto se baseia na RDC 222 (ANVISA) de 28 de Março de 2018, que regulamenta as boas práticas de gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde.
- Antes de descartar o material usado, autoclavar a 121ºC por 20 minutos. Para acondicionamento do material a ser autoclavado, recomendamos o uso dos sacos para autoclavação - Detrilab.
- Contate o serviço de vigilância sanitária de sua região para garantir o cumprimento correto da legislação de descarte de produtos potencialmente contaminantes.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)
- Estufa bacteriológica;
- Alças bacteriológicas;
- Bico de Bunsen;
- Placas de Petri estéreis (para uso com o frasco de 100 mL);
- Banho-Maria (para uso com o frasco de 100 mL).

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO
Placas prontas para uso:
a- Retirar o pacote da refrigeração e, em ambiente asséptico, separar as placas a serem usadas, devolvendo o restante ao refrigerador;
b- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 35-37ºC pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura, ou deixar estabilizar/secar em temperatura ambiente;
c- Usando procedimentos adequados, proceder a inoculação do material diretamente na superfície do meio;
d- Incubar o material em estufa bacteriológica entre 35-37°C por 18-24h;
e- Após a incubação, avaliar o padrão de crescimento, aspectos morfológicos e a fermentação ou não da lactose;
f- Devido a exigências especiais, alguns microrganismos podem necessitar de um período maior de incubação, se não ocorrer o crescimento nas primeiras 24 horas, ou caso o crescimento apresentado não seja o suficiente, incubar o material em estufa bacteriológica entre 35-37ºC, por mais18-24h;
g- Após o total desenvolvimento das colônias, proceder com os processos de identificação conforme estabelecido em seu laboratório;
h- A avaliação microscópica de colorações de Gram da amostra e, se necessário, da colônia analisada pode elucidar dúvidas e oferecer um melhor direcionamento para o processo de identificação.

Meio em frascos com 100 mL:
a- Levar o frasco ao banho-maria fervente até obter a liquefação do meio (sem ferver o meio);
b- Distribuir de forma asséptica todo o conteúdo do frasco nas placas de Petri estéreis (20 mL por placa 90x15 mm diâmetro);
c- Submeter as placas ao controle de esterilidade e qualidade;
d- As placas após preparadas terão sua validade estabelecida pelo usuário, e podem ser usadas conforme procedimento descrito no item "*Placas prontas para uso"*.

7. RESULTADOS
Relatório
- Não houve crescimento:
"Ausência de crescimento microbiano na amostra analisada após 24/48h de incubação a 35ºC";
- Havendo crescimento:
"Nome do microrganismo (indicar bactéria identificada)
Contagem de colônias (indicar resultado) UFC/mL". (apenas quando aplicável).

Morfologias típicas das colônias em ágar MacConkey:

Microrganismo	Características
Escherichia coli	Colônias cor-de-rosa a vermelhas (podem estar cercadas por uma zona de precipitação biliar), dimensão média a grande.
Enterobacter spp., *Klebsiella* spp.	Colônias mucóide, cor-de-rosa, dimensão grande.
Proteus ssp., Morganella spp., *Providencia* spp.	Colônias incolores, de dimensão grande. A proliferação em torno das colônias isoladas é inibida (*swarming*).
Salmonella spp., *Shigella* spp.	Colônias incolores. Cor do meio: cor-de-laranja a âmbar, devido a redução de pH no meio. Dimensão média a grande.
Pseudomonas spp.	Colônias irregulares, incolores a cor-de-rosa, dimensão variável.
Cocos gram positivos	Inibição parcial a total.
Fungos e Leveduras	Inibição parcial a total.

Os bacilos gram negativos são identificados inicialmente com base na fermentação ou não da glicose. Na rotina laboratorial a diferenciação inicial pode utilizar características da colônia para decisão do processo de identificação, juntamente com o teste de oxidase. A utilização do Sistema Bactray, kit de Enterobactérias ou provas bioquímicas (TSI, LIA, SIM, MIO, entre outras) é necessária para a conclusão da identificação do microrganismo.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO
(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)
- 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, consequentemente, 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.
- A presença de mais de uma variante genética intrínseca a cepa analisada, pode interferir nas características de crescimento. É possível que características únicas ou mutadas da cepa possam interferir no desempenho do meio de cultura afetando ou retardando o total desenvolvimento das colônias.
- Inóculos com excesso de carga bacteriana podem interferir na avaliação de resultados.
- A presença de mais de um microrganismo na amostra pode ocasionar sobreposição de colônias na superfície do meio de cultura, dificultando sua identificação, para estes casos, recomenda-se o reisolamento das colônias diferentes, mantendo a contagem da placa inicial.
- Para assegurar a qualidade do desenvolvimento das colônias de enterobactérias neste meio de cultura, os volumes de inibidores são controlados, o que pode ocasionar, embora muito raramente, o crescimento de estirpes de enterococos ou de estafilococos. Estas cepas, normalmente, apresentam características mutadas e resistência aumentada a ação de sais biliares e cristal violeta. Para estes casos, sugere-se o reisolamento das colônias em meios nutritivos.
- A qualidade dos resultados de análises microbiológicas é intimamente ligada à qualidade da amostra, as melhores práticas pré-analíticas, como cuidados extremos com a assepsia do processo ou paciente, garantem um melhor resultado.
- Alguns microrganismos fastidiosos, gram-negativos ou não, não apresentam crescimento neste meio de cultura (*Neisseria gonorrhoeae*, *Mycobacterium* spp., *Legionella* spp., *Bordetella* spp. por exemplo). Para a recuperação destas espécies, utilizar meios de cultura apropriados.
- Embora as características das colônias sugiram a possibilidade de serem realizados alguns testes de diagnóstico diretamente neste

meio de cultura, é indispensável à realização de testes bioquímicos para uma completa identificação e, se indicado, a realização de testes imunológicos usando culturas puras. Consultar a bibliografia apropriada para mais informações.

- Os resultados falso–negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:
  - Técnica de coleta inadequada
  - Incubação em temperatura inadequada
  - Uso de antimicrobiano prévio
  - Utilização de alça flambada não resfriada
  - Tempo de incubação insuficiente
  - Infecção crônica (infecção pouco ativa)
  - Armazenamento ou transporte de amostra inadequado
  - Agentes etiológicos exigentes com relação aos meios de cultura
  - Necessidade de meios especiais para o crescimento de um agente infeccioso específico

- Os resultados falso–positivos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:
  - Técnica de assepsia inadequada
  - Erro na conservação do material
  - Tempo longo entre a coleta e análise
  - Tempo excessivo de incubação
  - Interpretação equivocada de colônias não patogênicas
  - Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas
  - Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- Materiais necessários

Cepas padrão: ATCC® (*American Type Culture Collection)* ou derivadas).

- Controle de qualidade recomendado:

Cepas	Resultado esperado
Escherichia coli ATCC 25922	Crescimento bom – Lactose positiva
Proteus mirabilis ATCC 25933	Crescimento bom – Lactose negativa
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Inibição total
Meio não inoculado	Meio sólido, levemente opaco, com coloração salmão a avermelhada, podendo apresentar pequenos precipitados.

- Periodicidade

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

- Análise dos resultados

As cepas inoculadas no material devem apresentar características de crescimento esperados. Caso se constate algum problema ou diferença, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

- Este produto apresenta sensibilidade e especificidade ≥ 99,6% frente aos principais microrganismos não fastidiosos.

Microrganismo	Sensibilidade % (Intervalo de confiança de 95%)	Especificidade % (Intervalo de confiança de 95%)
Escherichia coli	411/4411 **100,0%** (99,6 – 100%)	485/485 **100,0%** (99,8 – 100%)
Proteus mirabilis	304/304 **100,0%** (99,3 – 100%)	701/701 **100%** (98,2 – 100%)
Klebsiella pneumoniae	212/213 **99,6%** (97,9 – 99,9%)	307/307 **100%** (99,1 – 100%)

10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin 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 técnico;
- Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
- 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 expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.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 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS

1. Association of Official Analytical Chemists. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed., App. 3.08-3.09. AOAC International, Gaithersburg, MD.
2. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
3. Baron, E. J, L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed., p. 415. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.
4. Chapin, K.C., and T.-L Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Difco Manual, 2º ed., 2009.
6. 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.
7 Dunne Jr. W.M., Nolte, F.S. and Wilson, M.L. Blood Culture III. CUMITECH 1B. Coord. Ed. J.A. Hindler, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1997.
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 Farmer III, J.J. 2003. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10 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.
11. Jacobs, J.A., De Brauwer, E.I.G.B., Cornelissen, E.I.M. and Drent, M. Accuracy and precision of quantitative calibrated loops in transfer of bronchoalveolar lavage fluid. J Clin Microbiol 38(6):2117-2121, 2000.
12. Koneman, Elmer; *et al.* Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
13. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
14. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg. 5:333-379.
15. 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.
16. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
17. Mahon, Connie, Manuselis, George Jr. Diagnostic Microbiology. Saunders, USA, 1995.

18. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
19. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO2 vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.
20. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Yolken (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
21. Murray, P.R. *et al*. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed, American Society for Microbiology 1999.
22. NNIS. National Nosocomial Infections Surveillance. MMWR, 49, 8, March 3, 2000.
23. Reller, R.B., Murray, P.R. and MacLowry, J.D. Blood Culture II. CUMITECH 1A. Coord. Ed. J.A. Washington II, American Society for Microbiology, Washington, DC, 1982.
24. Silva, de Neusely; *et al*. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 4° ed., 2010.
25. Schryver, A. and Meheus, A. Epidemiology of sexually transmitted diseases: a global picture. Bull WHO, 68:639–654, 1990.
26. 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. Yolken (ed.).

Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda
CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone 041 36619000
www.laborclin.com.br
Responsável Técnico:
Maire Wakamori – CRF/PR-20176
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-0410027
sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico in vitro.
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas asséptica de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)