

## Finalidade

Agar Sabouraud Dextrosado + Cloranfenicol Mibiolog é um meio de cultura, destinado ao isolamento e conservação de fungos patogênicos e saprófitas, inibindo o crescimento das bactérias sensíveis ao cloranfenicol.

## Princípio de ação

As peptonas de caseína e carne e a glicose estabelecem as condições ideais de crescimento dos dermatófitos. O pH final do meio (ácido) e o cloranfenicol, favorece o crescimento dos fungos e dificulta o desenvolvimento de bactérias.

## Composição

Peptona de caseína	5.0 g/L
Peptona de carne	5.0 g/L
Glicose	40.0 g/L
Ágar	15.0 g/L
Cloranfenicol	0,05g/L
Água destilada	q.s.p.
pH final	6,9 ± 0,2

## Materiais necessários não fornecidos

Bico de Bunsen ou câmara de fluxo laminar

Estufa bacteriológica

Alças de platina

## Armazenamento e transporte do produto

A data de validade aparece no rótulo da embalagem. Não usar produtos cuja data de validade tenha expirado..

1. Meio de cultura pronto para uso em tubo.

O meio de cultura deve ser mantido sob refrigeração, entre 2 e 8°C, bem selado, de forma a se evitar a oxidação do produto. Quando obedecidas essas condições de armazenamento, o meio de cultura em tubo mantém-se adequado para uso até a data de validade expressa no rótulo.

2. Meio de cultura desidratado em frascos

As embalagens devem ser mantidas em temperaturas entre 2 e 30°C, ao abrigo da luz, umidade e fontes de calor. Quando obedecidas essas condições de armazenamento, o meio de cultura em frascos mantém-se adequado para uso até a data de validade expressa no rótulo.

## Precauções e cuidados especiais

1. Meio de cultura pronto para uso em tubos.

Somente para uso diagnóstico "in vitro".

Usar luvas descartáveis quando manusear amostras.

Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.

A manipulação dos tubos só deve ser realizada próxima à chama ou sob fluxo laminar, de forma a se evitar a contaminação do meio de cultura, evidenciada pelo crescimento espúrio de microrganismos.

Verificar, antes de realizar o inóculo da amostra, o aspecto e as características do meio de cultura. Este deve se apresentar límpido, homogêneo, e com volume conforme sua apresentação. A constatação de qualquer irregularidade demonstra a inadequação do meio de cultura para uso.

De igual importância, a verificação do meio, no que se refere à presença de contaminação. A constatação de crescimento de microrganismos, evidenciada pela turbidez do meio, acarreta no descarte do material, por este ser impróprio para uso.

Todos os tubos, bem como todo o material utilizado no processo de análise, devem, obrigatoriamente ser autoclavados a 121°C, a uma pressão de 1 atm, durante 15 a 20 minutos, antes de seu descarte final.

2. Meio de cultura desidratado em frascos

Manter os frascos de meio de cultura sob condições ideais de armazenamento já descritas.

Assegurar-se de que após o uso o frasco esteja bem fechado.

Usar água destilada ou deionizada de boa qualidade.

Preparar o meio de cultura em recipiente de volume duas vezes e meia maior que o volume desejado para permitir hidratação, mistura e aeração adequados.

Realizar as provas de controle de qualidade específicas do meio.

## Amostra

Amostras biológicas e materiais diversos, suspeitos de conterem fungos.

As amostras devem ser colhidas seguindo cuidados específicos de forma a se obter representatividade do processo infeccioso, assepsia na coleta da amostra e sem interações medicamentosas.

Não é aconselhado o armazenamento de amostra com microbiota mista. Raspados de pele, pêlo e unhas podem ser armazenados à temperatura ambiente.

## Procedimento

Ler cuidadosamente as instruções desta bula.

1. Meio de cultura pronto para uso em tubo.

Inocular a amostra. Obedecer os critérios internos do laboratório acerca das condições de assepsia e esterilidade do local de trabalho.

O tempo de incubação e a temperatura dependerão do agente a ser pesquisado. Por exemplo, dermatófitos deverão ser incubados à temperatura ambiente por até 30 dias.

2. Meio de cultura desidratado em frascos

Indicado para o preparo de tubos de uso.

Dissolver 65 g em 1 litro de água destilada ou deionizada. Hidratar por 10 a 15 minutos. aquecer agitando frequentemente e ferver por no máximo 1 minuto. Esterilizar a 121°C a uma pressão de 1 atm por 15 minutos. **Não superaquecer**, pois o ágar perderá sua capacidade de solidificar-se podendo também escurecer o meio. Esfriar até 45-50°C. Distribuir 10-15 mL por tubo estéril. Se não for usado no mesmo dia, armazenar entre 2 e 8°C em recipiente fechado.

## Interpretação

Não havendo crescimento de fungos, constata-se amostra isenta dos mesmos.

Havendo crescimento, realizar a identificação considerando velocidade de crescimento, características morfológicas da colônia e características morfológicas microscópicas.

Quando se trata de levedura podemos realizar tubo germinativo, auxanograma e/ou zimograma.

Para fungos filamentosos fazemos a observação da morfologia da colônia e aspectos microscópicos. Na colônia observamos: cor, textura, superfície e pigmento no meio de cultura. Caso necessário, analisar uma cultura feita no ponto central de uma camada de ágar distribuído em placa de Petri. A velocidade de crescimento pode ser rápida (< 7 dias), intermediária (8 a 14 dias) ou lenta (> 15 dias). A observação das estruturas microscópicas (facilitadas pela realização de microcultivo), como hifa hialina ou demácea, septada ou asseptada, disposição e formação dos esporos, são elementos para a identificação de fungos filamentosos. Alguns fungos, necessitam também do uso de provas bioquímicas para identificação.

## Controle de qualidade

O laboratório deve preferivelmente participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC.

Para controle interno de qualidade, recomendamos utilizar cepas ATCC de *Candida albicans*, *Aspergillus Niger* e *Escherichia coli*.

#### Dados estatísticos

Por se tratar de meio de cultura de enriquecimento, não existem formas de se realizar estudos de sensibilidade e especificidade.

Reprodutibilidade e repetitividade: A realização de 20 culturas de uma mesma suspensão de cepa-padrão com valor 0,5 McF, em dias alternados, ao longo de 15 dias, demonstrou um coeficiente de variação igual a 8,10%.

Estabilidade: Quando mantido sob condições ideais de armazenamento, o meio de cultura pronto para uso em placa mantém-se adequado para uso por 6 a 8 semanas. A estabilidade para consumo adequado do produto é de 7 semanas. O meio de cultura desidratado em frascos quando mantido sob condições ideais de armazenamento mantém-se adequado para uso por 60 meses.

#### Interferentes

Amostras contaminadas, quando colhidas inadequadamente, ou oriundas de pacientes fazendo uso de antimicrobianos produzem resultados não condizentes com a realidade clínica do paciente. Em casos em que haja suspeita de qualquer destes interferentes na amostra, repetir o exame após saná-los.

#### Apresentação

1. Meio de cultura pronto para uso em tubos:

Embalagens com 10 tubos.

2. Meio de cultura desidratado em frascos:

Embalagens de 100 e 500g.

#### Bibliografia

1. Koneman, E.W. Trad. Cury, A.E. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5a. Ed., MEDSI, Rio de Janeiro, 2001.
2. Lacaz C.S., Porto, E., Martins, J.E.C., Heins-Vaccari, E.M. and Melo, N.T. **Tratado de Micologia Médica**, 9a ed., Sarvier, São Paulo, 2002.
3. Larone, D.H. **Medically Important Fungi: A guide to Identification**, 3º ed., Washington, DC., 2000.
4. Maza, Pezzlo and Baron **Atlas de Diagnóstico em Microbiologia**, ed. Artmed, Porto Alegre, 1999.
5. Minami, P.S. **Micologia: Métodos Laboratoriais de Diagnóstico das Micoses**, Ed. Manole Ltda, São Paulo, 2003.
6. Murray, P.R., Baron, J.E., Pfaller, A.M., Tenover, C.F. and Tenover, H.R. **Manual of clinical microbiology**. American Society for Microbiology, 7th ed., Washington. DC, 1999.
7. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**, Sarvier, São Paulo, 2000.

8. Sidrim, J.J.C. and Moreira, J.L.B. **Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica**. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 1999.

**Resp. Técnico:** Fabrício Galvão de Brito

**Revisão:** Junho/2010

**Versão:** 01

**MBiolog Diagnósticos Ltda**

**Rua Gama, 337 – Vila Paris**

**Contagem / MG – 32372-120**

**Tel: (31) 3507-0700**

**Fax: (31) 3507-0707**

[sac@mbiolog.com.br](mailto:sac@mbiolog.com.br)

[www.mbiolog.com.br](http://www.mbiolog.com.br)

