

Instruções de Uso

Agar Sal Manitol



Finalidade

Ágar Sal manitol Mbiolog é um meio de cultura, muito usado para o isolamento de *Staphylococcus aureus* de amostras biológicas como urina, secreções, feridas e exudatos. Também usado na indústria alimentícia para o isolamento e identificação de estafilococos em líquidos e produtos lácteos, carnes e derivados, incluindo conservas e pescados.

Princípio de ação

A degradação do manitol com a produção de ácido muda a cor do meio de rosado a amarelo. Devido ao seu alto conteúdo de cloreto de sódio, pode-se fazer uma inoculação maciça da amostra em estudo. Geralmente se incubadas as placas por mais ou menos 36 horas, aparecendo as colônias de estafilococos não-patogênicos de tamanho pequeno e rodeadas de uma zona vermelha. As colônias de *Staphylococcus aureus* fermentadores do manitol são maiores e rodeadas de uma zona amarela.

Composição

Peptona de caseína	5,0 g/L
Peptona de carne	5,0 g/L
Extrato de carne	1,0 g/L
D-manitol	10,0 g/L
Cloreto de sódio	75,0 g/L
Vermelho de fenol	0,025 g/L
Ágar	15,0 g/L
Água destilada	q.s.p.
pH final	7,40 ± 0,20

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 placa de Petri.

Deve ser mantido sob refrigeração, entre 2 e 8°C, embalados em sacos plásticos e acondicionados em posição invertida (tampa voltada para baixo) de forma a se evitar a desidratação precoce do produto. Quando obedecidas essas condições de armazenamento, o meio de cultura em placa 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 placa de Petri.

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 das placas 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, a superfície e as características do meio de cultura. Este deve se apresentar liso, homogêneo, isento de rachaduras, bolhas, e grumos. A constatação de qualquer uma destas irregularidades demonstra a inadequação do meio de cultura para uso.

De igual importância, a verificação do meio no referente à presença de colônias oriundas de agentes contaminantes também deve ser realizada. A constatação de crescimentos acarreta no descarte do material, por este ser impróprio para o uso.

Todas as placas, 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

Urina, secreções, feridas, exudatos, além de líquidos e produtos lácteos, carnes e derivados, incluindo conservas e pescados.

As amostras devem ser colhidas

segundo cuidados específicos de forma a se obter representatividade do processo infecioso, assepsia na coleta da amostra e sem interações medicamentosas.

Não é aconselhado o armazenamento da amostra. Em casos extremos, em que não se pode realizar o inóculo imediato, a amostra deve ser conservada sob refrigeração..

Procedimento

Ler cuidadosamente as instruções desta bula.

1. Meio de cultura pronto para uso em placa de Petri.

Inocular a amostra por estrias através de esgotamento da alça de platina. Obedecer os critérios internos do laboratório acerca das condições de assepsia e esterilidade do local de trabalho.

Incubar a placa inoculada à 35 ± 2°C por 24 horas.

Após incubação, observar as placas. Caso não haja crescimento reincubar por mais 24h

2. Meio de cultura desidratado em frascos

Indicado para o preparo de placas de Petri de uso

Dissolver 111g em 1 litro de água destilada. Hidratar por 10 a 15 minutos. aquecer agitando frequentemente e ferver por no máximo 1 minuto. Esterilizar a 121°C e 1 atm por 15 minutos. Esfriar até 45-50°C. Distribuir 15-20 mL por placa de petri estéril. Se não for usado no mesmo dia, armazenar entre 2 e 8°C em posição invertida.

Interpretação

Não havendo crescimento bacteriano, constata-se amostra isenta de bactérias.

Staphylococcus aureus fermentadores de manitol produzem colônias grandes e rodeadas de uma zona amarela. Os estafilococos não-patogênicos produzem colônias pequenas e rodeadas de uma zona vermelha. O *Staphylococcus epidermidis* e *Bacillus subtilis* produz colônias brancas.

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 cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.

Aparência do meio

O meio se apresenta vermelho rosado.

Instruções de Uso

Agar Sal Manitol



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 4 dias, demonstrou um coeficiente de variação igual a 9,02%.

Estabilidade: Quando mantido sob condições ideais de armazenamento, o meio de cultura pronto para uso mantém-se adequado até a data de validade impressa na placa. O meio de cultura desidratado em frascos quando mantido sob condições ideais de armazenamento mantém-se adequado para uso até sua data de validade.

Interferentes

Temperaturas de incubação muito altas podem interferir na reprodução bacteriana.

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 placa de petri:

Embalagem Nº de culturas

10 placas 10

2. Meio de cultura desidratado em frascos:

Embalagens de 100 e 500g.

Bibliografia

1. CHAPMAN, G.H., J. Bacteriology, 50: 201-203, 1945
2. Difco & BBL Manual . Manual Of Microbiological Culture Media. Ed., United States of America, 2003.
3. Koneman, E.W. Trad. Cury, A.E. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5a. Ed., MEDSI, Rio de Janeiro, 2001.
4. Murray, P.R., Baron, J.E., Pfaffer, A.M., Tenover, C.F. and Yolken, H.R. Manual of clinical microbiology. American Society for Microbiology, 7th ed., Washington. DC, 1999.
5. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica, Sarvier, São Paulo, 2000.
6. PORTER, I.ª, Nicholson, J.: J. Clin. Path, 14: 557, 1961

Resp. Técnico: Fabrício Galvão de

Brito

Revisão: Junho/2010

Versão: 01

MBIOLG Diagnósticos Ltda

Rua Gama, 337 – Vila Paris

Contagem / MG – 32372-120

Tel: (31) 3507-0700

Fax: (31) 3507-0707

sac@mbiolog.com.br

www.mbiolog.com.br

