

Instruções de Uso

Rugai Modificado por pessoa e silva



Finalidade

Rugai e Araújo Modificado por Pessoa e Silva Mbiolog é um meio utilizado para identificação presumtiva de enterobactérias, vibrios e Aeromonas. Este meio permite a leitura, num só tubo, das seguintes reações: Motilidade, Lisina descarboxilase, Fermentação de glicose e sacarose, Produção de gás-glicose, ácido sulfídrico, Indol, Urease e L-triptofano desaminase.

Princípio de ação

Rugai e Araújo modificado por Pessoa e Silva Mbiolog possui triptona, extrato de carne e levedura, os quais são utilizados como fonte de carbono e nitrogênio. O L-triptofano atua como substrato para produção de indol, indicado pelo p-dimetilaminobenzaldeído contido no tampão de algodão, e ácido indol pirúvico, revelado pelo citrato férrico amoniacal juntamente com o gás sulfídrico que é produzido a partir do Tiosulfato de sódio. A glicose e sacarose funcionam como fonte de carbono para produção de energia e permitem o teste de fermentação. A L-lisina é um substrato para produção de cadaverina, através da L-lisina descarboxilase. O nitrato de potássio impede a formação de gás na parte inferior do tubo e a uréia permite a detecção da enzima urease. O azul de bromotimol e púrpura de bromocresol são indicadores de pH.

Reativo de Ehrlich

Composição

p-dimetilaminobenzaldeído	1,0 g
Ácido ortofosfórico	20 mL
Álcool etílico	50 mL
Água destilada	30 mL

Substrato

Citrato férrico amoniacal	2 g
Tiosulfato de sódio 5 H ₂ O	2 g
Sacarose	80 g
Dextrose	10 g
Uréia	40 g
Água destilada	85 mL

Vascar

Parafina	30 g
Vaselina líquida	90 mL

Parte superior

Peptona de caseína	10 g
Extrato de levedura	2 g
Cloreto de sódio	5 g
Fosfato dissódico 7 H ₂ O	2,31 g
L - triptofano	1 g
Azul de bromotimol	0,03 g
Ágar	11 g
Água destilada	1000 mL

Parte inferior

Extrato de levedura	3 g
Dextrose	0,5 g
Nitrato de potássio	0,5 g

L - Lisina	5 g
Púrpura de bromocresol	0,02 g
Ágar	4 g
Água destilada	1000 mL
pH final da parte superior:	7,4 ±0,2
pH final da parte inferior:	6,4 ±0,2

Materiais necessários não fornecidos

Bico de Bunsen ou câmara de fluxo laminar

Estufa bacteriológica

Alças de platina ou descartável tipo agulha

Armazenamento e transporte do produto

As datas de fabricação e validade aparecem no rótulo da embalagem. Não usar produtos cuja data de validade tenha expirado.

O meio de cultura deve ser mantido sob refrigeração, entre 2 a 8°C, embalados em sacos plásticos, de forma a se evitar a desidratação precoce do produto. Quando mantido sob condições ideais de armazenamento, o meio de cultura mantém-se adequado para uso durante 3 meses.

Precauções e cuidados especiais

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 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 microorganismos.

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 que se refere 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 uso.

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

Amostra

Por se tratar de meio de cultura adequado à identificação, recomenda-se utilizar colônias puras para inóculo. Este inóculo deve seguir à regra, as instruções de uso do produto.

Procedimento

Ler cuidadosamente as instruções desta bula.

Semear partindo de uma colônia isolada e pura. Deve ser feita por picadas de tal maneira que após atravessar para a lisina toque suavemente o fundo do tubo; retirar a alça com cuidado e fazer estrias na parte inclinada do meio. Tampar o tubo com seu próprio tampão de algodão incubar de 35 a 37°C por 18 - 24 horas. Após a incubação, proceder à identificação comparando o tubo com a tabela de interpretação das reações.

Para determinadas espécies, é necessária a confirmação da identificação através de outros testes bioquímicos, tais como: Ornitina, Citrato, Malonato, Oxidação/Fermentação, DNase, etc.

Tampão de Algodão	
Reação	Interpretação
Rosa	Produção de indol
Inalterado	Ausência de indol
Parte Inclinada	
Reação	Interpretação
Amarelo	Sacarose fermentada
Azul	Sacarose não fermentada
Bisel castanho	Produção de LTD e sacarose fermentada
Base	
Reação	Interpretação
Amarelo	Sacarose fermentada
Amarelo com bolhas	Glicose fermentada c/ produção de gás
Negra	Produção de ácido sulfídrico
Azul	Produção de urease
Parte Inferior	
Reação	Interpretação
Violeta	Produção de lisina
Amarela	Ausência de lisina
Meio Turvo	Presença de Motilidade
Sem turvação	Ausência de motilidade

O laboratório deve 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 *E.coli*, *klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Rugai Modificado por pessoa e silva

Dados estatísticos

Por se tratar de meio de cultura de enriquecimento (seletivo), 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 7,12%.

Estabilidade: Quando mantido sob condições ideais de armazenamento, o meio de cultura mantém-se adequado para uso por 3 meses. A estabilidade para consumo adequado do produto é de 3 meses.

Interferentes

As colônias devem ser bem isoladas e selecionadas.

Caso haja evidência de contaminação da placa que foi utilizada para extrair a colônia repicada, deve-se descartá-la.

Quando retirado da refrigeração por um período superior ao necessário para o plantio, o meio pode apresentar sinais de desidratação e fundição do vascar, ocasionando a mistura das fases inferior e superior.

Apresentação

Embalagens com 25 tubos.

Bibliografia

1. Rugai & Araújo. Meios de cultura para identificação presuntiva de bacilos intestinais gram-negativos. Rev. Inst. Adolfo Lutz 28:79-83 1968
2. Pessoa Gil Vilat Alvares – Meios de Rugai e Lisina – motilidade combinados em um só tubo. Rev. Inst. Adolfo Lutz 32:97-100 1972
3. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica, Sarvier, São Paulo, 2000.

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

www.mbiolog.com.br

