

## Finalidade

O Agar Cled Mbiolog é um meio de cultura enriquecido, destinado ao isolamento e cultivo de diversos microrganismos, recomendado para amostras de urina, fornecendo uma boa diferenciação colonial, com características diagnósticas nítidas. Permite, portanto, a cultura e contagem de bactérias Gram positivas ou Gram negativas, impedindo a formação do “véu” de *Proteus spp.*

O Ágar MacConkey Mbiolog é um meio seletivo para enterobactérias destinado à detecção, isolamento, contagem de coliformes e patógenos intestinais da água, laticínios e materiais biológicos.

## Princípio da Ação

### Ágar Cled:

A lactose facilita a detecção de coliformes contaminantes fermentadores da mesma e que são facilmente reconhecidos pela mudança de coloração do meio (verde para o amarelo) e concomitantemente a isso, por se tratar de um meio eletrólito-deficiente, impede a formação do “véu” de *Proteus spp.*

### Ágar MacConkey:

Organismos que fermentam lactose, produzem pH localizado, o qual, seguido pela absorção do vermelho neutro contido no meio, confere uma coloração vermelha ou rósea à colônia, enquanto que colônias não fermentadoras de lactose permanecem incolores ou transparentes.

## Composição

### Agar Cled

Peptona de Caseína	4,0 g/L
Peptona de Gelatina	4,0g/L
Extrato de Carne	3,0 g/L
Lactose	10,0 g/L
L-Cistina	0,128 g/L
Ágar	15,0 g/L
Azul de Bromotimol	0,02 g/L
Água Destilada	q.s.p.
pH final	7,3 ± 0,2 a 25°C

### Agar MacConkey

Peptona de Caseína	1,5 g/L
Peptona de Carne	1,5 g/L
Peptona de Gelatina	17,0 g/L
Sais biliares (mistura)	1,5 g/L
Lactose	10,0 g/L
Cloreto de Sódio	5,0 g/L
Vermelho Neutro	0,03 g/L
Cristal Violeta	0,001 g/L
Ágar	13,5 g/L
Água destilada	q.s.p.
pH final	7,1 ± 0,20

## Materiais necessários não fornecidos

- Bico de Bunsen ou câmara de fluxo laminar;
- Estufa bacteriológica;
- Alças de platina ou descartáveis.

## Armazenamento e transporte

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

### 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.

## 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 só deve ser realizada próxima à chama ou dentro de cabine com 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. 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.

## Amostra

### Agar Cled

Urina de jato médio, colhida seguindo criteriosa assepsia e higienização em coletor esterilizado ou recipiente adequado.

### Agar MacConkey

Amostras biológicas, águas de esgotos e alimentos, suspeitos de conterem enterobactérias.

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 se

aconselha o armazenamento da amostra. Em casos extremos, em que não se pode realizar o inóculo de imediato, a amostra deve ser conservada sob refrigeração a 4°C por, no máximo, 24h.

## Procedimento

Ler cuidadosamente as instruções desta bula.

Inocular a colônias isoladas e aguardar. Obedecer aos critérios internos do laboratório acerca das condições de assepsia e esterilidade do local de trabalho. Incubar o tubo inoculado à 35 +/- 2°C por até 24 horas. Após incubação, observar os tubos.

## Interpretação

### Ágar Cled

Não havendo crescimento bacteriano, constata-se amostra isenta de bactérias. Havendo crescimento bacteriano, realizar a contagem do número de colônias e multiplicar pelo fator de diluição ou pelo volume relativo da alça. Este procedimento visa obter o número de colônias/ml.

### Exemplo:

nº de colônias contadas: 25

Calibração da alça= 1,0x10<sup>-3</sup>ml

nº de colônias/ml=25x10<sup>3</sup>=25.000 colônias/ml

### Ágar MacConkey

Não havendo crescimento bacteriano, constata-se amostra isenta de bactérias. As bactérias fermentadoras de lactose produzem colônias vermelhas ou rosadas. Outros bastonetes gram-negativos, como *Pseudomonas ssp.* e *Aeromonas ssp.* também apresentam crescimento, formando colônias cuja coloração varia de incolor até verde café. Bastonetes Gram-positivos têm seu crescimento inibido pelos sais biliares e pelo cristal violeta. Em número reduzido, *Enterococcus faecalis* pode desenvolver-se, formando colônias puntiformes vermelhas.

## Controle de qualidade

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

Para controle interno de qualidade de ágar Cled, recomendamos utilizar cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* e *Escherichia coli*.

Para controle interno de qualidade, de Ágar Mac Conkey, recomendamos utilizar cepas ATCC de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Enterococcus faecalis*.

## Dados estatísticos

### Reprodutibilidade e repetitividade:

A realização de 20 culturas de uma mesma suspensão de cepa padrão com valor 0,5McF, em dias alternados, ao longo de 8 dias, demonstrou um coeficiente de variação igual a 8,37%.

### Estabilidade:

Quando mantido sob condições ideais de armazenamento, o meio de cultura pronto para uso em placa mantém-se adequado para uso por 3 meses.

### Interferentes

Temperaturas de incubação muito altas podem interferir no crescimento da bactéria. 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

Embalagens com 10 placas.

### Bibliografia

- 1.Tarshis, M.S., Frisch, A.W.: Am. J. Clin. Path., 21:101-103, 1951
- 2.Schubert, J.H. et al.: J. Bacteriology, 77:648-654, 1959
- 3.Snavely, J.G., Brahier, J.: Am. J. Clin Path., 33 (6): 511-515,1960



Rua Gama, 337 – Vila Paris  
Contagem / MG – CEP: 32372-120  
CNPJ: 03.590.360/0001-89  
Tel.: (31) 3507.0707  
Fax: (31)3507.0700  
mbiolog@mbiolog.com.br  
www.mbiolog.com.br

Farm. Resp.: Fabrício Galvão de Brito  
CRF-MG: 9587