

Finalidade

O Agar Cromogênico ITU Mbiolog é um meio de cultura, diferenciado, que promove a identificação presuntiva dos principais patógenos que causam a infecção do trato urinário através da detecção, por agentes cromogênicos específicos, da atividade enzimática bacteriana sobre determinados substratos.

Princípio da Ação

O meio contém dois substratos cromogênicos específicos que são clivados por enzimas produzidas por *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli* e coliformes (β -glucuronidase e β -glucosidase). Além disso, contém fenilalanina e triptofano, que promovem a identificação através da atividade da triptofano-desaminase, demonstrando a presença de *Proteus spp.*, *Morganella spp.* e *Providencia spp.* Este meio é baseado em ágar Cled, sendo valioso meio para cultura em placa dos demais organismos causadores de infecções do trato urinário, também prevenindo o aparecimento do véu de *Proteus spp.*

Composição

Extrato de Carne	3,0 g/L
Peptonas	10,0 g/L
L-cistina	0,13 g/L
Extrato de Levedura	1,0 g/L
Substratos	0,2g/L
Ágar	16,7 g/L
Água Destilada	q.s.p.
pH final	6,8 \pm 0,2

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:

O meio de cultura deve ser mantido sob refrigeração, entre 2 a 8°C, bem selado, de forma a se evitar a oxidação do produto. Quando obedidas essas condições de armazenamento, o meio de cultura em tubo se mantém 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

Urina de jato médio, colhida seguindo criteriosa assepsia e higienização em coletor esterilizado ou recipiente adequado. 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 da amostra. Em casos extremos, em que não se pode realizar o inóculo imediato, a amostra deve ser conservada sob refrigeração, a 4°C por no máximo 24 horas.

Procedimento

Inocular a amostra por estrias através de esgotamento da alça de platina. Obedecer aos critérios internos do laboratório acerca das condições de assepsia e esterilidade do local de trabalho. Incubar a placa inoculada à 37°C por 24 horas. Após incubação, observar as placas.

Interpretação

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. Após a contagem, identificar presuntivamente patógeno através da cor da colônia crescida.

Exemplo

n° de colônias contadas: 25

Calibração da alça= 1,0 . 10⁻³ mL

n° de colônias/ml=25x1,0.10³= 25.000 colônias/mL

Microorganismo	Enzima	Cor da Colônia
<i>Escherichiacoli</i>	β -glucuronidase+	Rósea ou branca com centro rosa (BGN com Indol+)
<i>Klebsiella spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> e <i>Serratia spp.</i>	β -glicosidase+	Azul-esverdeado (colônia grande eBGN)
<i>Enterococcus spp.</i>	β -glicosidase+	Verde azulado (colônia pequena ecocos Gram+)
<i>Proteus spp.</i> , <i>Morganella spp.</i> ou <i>Providenciaspp.</i>	Triptofano desaminase	Marrom ou bege
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	Rosa com colônias pequenas (cocos Gram+)
Leveduras, <i>S.aureuse</i> e <i>P.aeruginosa</i>	-	Pigmentação natural

Controle de qualidade

O laboratório deve participar de programas de controle externo de qualidade, a exemplo daqueles oferecidos pela SBAC e SBPC. É recomendado a realização do controle de qualidade através de cepas ATCC de *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* e *Proteus mirabilis*.

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 0,5McF, em dias alternados, ao longo de 8 dias, demonstrou um coeficiente de variação igual a 8,25%.

Estabilidade:

Quando mantido sob condições ideais de armazenamento, o meio de cultura pronto para uso mantém-se adequado por 03 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. Amostras muito

contaminadas dificultam a visualização das cores formadas. Sendo assim quando houver crescimento polimicrobiano não predominante, nova amostra (para urocultura) deverá ser solicitada. Havendo organismos com padrão enzimático atípico, reações anômalas poderão ocorrer. Por exemplo: em um ensaio experimental, uma cepa de *Enterobacter cloacae* demonstrou deficiência da atividade de β -glucosidase, resultando em colônias róseas que são indistinguíveis de *E. coli*. Nestes casos, a diferenciação é realizada através do teste da formação de Indol utilizando DMACA (o reativo de Kovac's não deve ser utilizado, uma vez que a coloração das colônias de *E. coli* interfere na cor vermelha do teste positivo). O reagente não deve ser aplicado diretamente sobre a placa, podendo ser realizado sobre papel filtro. Este teste permite a distinção entre *E. coli* e *Enterobacter spp.*, e também entre *Proteus mirabilis* e *Proteus vulgaris*.

Apresentação

Embalagens com 10 placas.

Bibliografia

1. Difco & BBL Manual . Manual Of Microbiological Culture Media. Ed., United States of America, 2003.
2. Friedman, M.P. et al (1991) Journal of Clinical Microbiology 29: 2385-2389
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., Tenover, C.F. and Tenover, H.R. Manual of clinical.
5. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica, Sarvier, São Paulo, 2000.
6. Pezzlo, M. (1998) Clinical Microbiology
7. Wilkie, M.E., Almond, M.K., Marsh, E.P. (1992) British Medical Journal 305:1137-1141.



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

SAC: (31) 3507-0707 | sac@mbiolog.com.br