

1. FINALIDADE:

O Ágar CLED Renylab é um meio de cultura usado para isolamento e quantificação de microrganismos presentes em amostras de urina. Este meio suporta o crescimento de agentes patogênicos e contaminantes urinários, mas a deficiência de eletrólitos inibe o véu de cepas de *Proteus*.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O desenvolvimento de um novo meio de cultura sólido que previna o véu de *Proteus* através da restrição de eletrólitos foi reportado por Sandy em 1960. Mackey e Sandy modificaram o meio utilizado para cultura de urina substituindo lactose e sacarose por manitol e aumentado a concentração de azul de bromotimol e ágar. A formulação foi novamente modificada posteriormente com adição de cistina e retirada da sacarose, sendo denominado Cystine Lactose Electrolyte Deficient médium (CLED).

As peptonas presentes na formulação fornecem aminoácidos essenciais, substâncias nitrogenadas e peptídeos necessários ao crescimento. Extrato de carne fornece vitaminas, carboidratos e compostos nitrogenados. A lactose é uma fonte de energia. A cistina aumenta o crescimento de coliformes cistina dependentes. O azul de bromotimol é um indicador de pH para diferenciar fermentadores de lactose (amarelos) de não fermentadores. As fontes de eletrólitos são restritas a fim de prevenir o véu de *Proteus*. As bactérias podem ser quantificadas através da inoculação de diluições apropriadas da amostra de urina.

3. AMOSTRAS:

Urina.

4. APRESENTAÇÃO:

Pacote com 10 placas 90x15mm lisas ou bipartidas.

5. COMPOSIÇÃO:

Peptona	7 gr/L
Triptona	4 gr/L
Lactose	10 gr/L
L-cistina	0,128 gr/L
Azul de bromotimol	0,02 gr/L
Ágar	15 gr/L

6. ARMAZENAMENTO:

Este produto deve ser armazenado em temperatura de 2 a 8°C, imediatamente após seu recebimento.

Para fins de transporte, este produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72 horas.

7. PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS:

- Produto para uso diagnóstico "in vitro";
- A utilização deste produto deve ser de exclusividade de profissionais capacitados;
- Na presença de aparecimento de quaisquer

estruturas, que remetam a possível contaminação, o produto deve ser imediatamente descartado;

- Não utilize produtos com o prazo de validade expirado ou com selo de qualidade rompido;
- Antes de descartar o material usado, autoclave a 121°C por 15 minutos.

8. PROCEDIMENTO TÉCNICO:

- Retirar as placas a serem utilizadas do refrigerador e aguardar até que as mesmas alcancem a temperatura ambiente;
- Estriar a superfície do meio, usando a técnica de semeadura para isolamento;
- Incubar a 35°C por 24 horas.

9. MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS:

- Estufa bacteriológica;
- Swab;
- Alça bacteriológica.

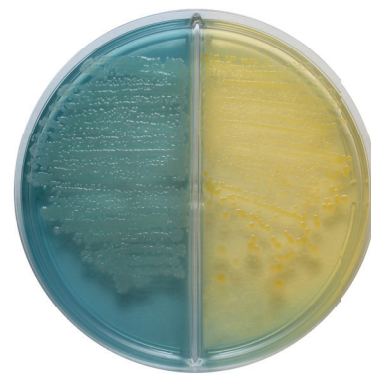
10. PROCEDIMENTO TÉCNICO:

- Retirar as placas a serem utilizadas do refrigerador e aguardar até que as mesmas alcancem a temperatura ambiente;
- Usando alça de platina flambada e resfriada, espalhar a amostra sobre a superfície da placa conforme técnica adequada de semeadura quantitativa;
- Incubar a 35°C por 24 horas.

11. RESULTADOS ESPERADOS

- Cor original do meio: verde claro.
- Colônias lactose positiva: cor amarela.
- Colônias lactose negativa: cor azul.
- Características de crescimento:

Microrganismo	Características
<i>Escherichia coli</i>	colônias opacas, amarelas com ligeira cor amarelo escuro no centro, com cerca de 1,25 mm de diâmetro, as não fermentadoras de lactose colônias azuis
<i>Enterobacter ssp.</i> , <i>Klebsiella ssp.</i>	colônias muito mucosas, cor variável de amarelo a branco azulado
<i>Salmonella ssp.</i> , <i>Shigella ssp.</i>	colônias planas, cor azul
<i>Pseudomonas ssp.</i>	colônias verdes, com superfície prateada e periferia rugosa
<i>Enterococcus faecalis</i>	colônias amarelas, com cerca de 0,5 mm de diâmetro
<i>Staphylococcus aureus</i>	colônias amarelas, com cerca de 0,75 mm de diâmetro
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	colônias amarelo palha e brancas
<i>Corynebacterium</i>	colônias pequenas e cinza
<i>Lactobacilos</i>	colônias pequenas e com superfície rugosa



A

B

A- *Proteus sp.*

B- *Escherichia coli*

OBSERVAÇÕES:

- Organismos que fermentam lactose baixam o pH e mudam a cor do meio de verde para amarelo, podendo assim verificar se o microrganismo é lactose negativo ou positivo;
- Espécies de *Shigella* não crescem em meios deficientes em eletrólitos.

12. LIMITAÇÕES DO MÉTODO:

- Fatores que podem ocasionar contagem baixa em urinas infectadas incluem: rápido fluxo urinário, tratamento com antimicrobianos, pH urinário menor que 5, gravidade específica menor que 1.003.
- A utilização de corantes na formulação pode acarretar leve foto sensibilidade, recomenda-se proteger o produto da incidência direta da luz.
- Meios de cultura apresentam grande quantidade de água em sua formulação, deste modo, variações de temperatura devem ocasionar a condensação e, conseqüentemente, o acúmulo de água na placa. O cuidado com o acondicionamento e exposição do meio a estas variações de temperatura são fundamentais para a manutenção da qualidade do produto.
- Algumas variações de coloração na colônia, morfologia ou tamanho podem ocorrer, devido a características únicas da cepa analisada.
- Inóculos com excesso de carga bacteriana podem interferir na avaliação de resultados.
- Resultados falso negativos podem ocorrer por técnica de coleta inadequada, armazenamento e transporte inadequados da amostra, tempo de incubação insuficiente, utilização da alça não resfriada após a flambagem.
- Resultados falso positivos podem ocorrer por erro na conservação do material, técnica de assepsia inadequada, tempo de incubação excessivo, contaminação cruzada, utilização de produto vencido, contaminado ou em condições inadequadas.

14. CONTROLE DE QUALIDADE:

- A cada lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo usuário.
- Positivo:
Lactose positiva: *Escherichia coli* ATCC 25922: crescimento moderado a denso, colônias médias ou grandes amareladas, após 48 horas de incubação.
Lactose negativa: *Proteus vulgaris* ATCC 8427: crescimento moderado a denso, colônias azuis translúcidas.
- Negativo: ausência de crescimento.

15. GARANTIA DA QUALIDADE:

- A RenyLab obedece o disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário :
- que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento
- que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas con-

dições de uso, manutenção e limpeza. Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.renylab.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone (32) 3331-4489 ou pelo e-mail sac@renylab.ind.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da RenyLab serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. ANVISA, Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos;
2. Oplustil, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica, Sarvier, São Paulo, 2000.
3. MERCK. Manual de medios de cultivo. Darmstadt, 1990.
4. NCCLS Document M22-A2, 1996. Quality Assurance for Commercially prepared Microbiological Culture Media-Second Ed.; Approved Standard.
5. Difco Manual, Tenth Edition. 1984. Difco Laboratories, Inc. Detroit, MI., U.S.
6. FDA (1995) Bacteriological Analytical Manual, 8 th ed. Revision A, 1998. Published by AOAC International.
7. Sandys. 1960. J. Med. Lab. Technol. 17:224
8. Mackey and Sandys. 1965. Br. Med. J. 2:1286
9. Mackey and Sandys. 1966. Br. Med. J. 1:1173



Fabricado e distribuidor por:

RenyLab Química e Farmacêutica Ltda
Rodovia BR 040 km 697 Caiçaras
Cep: 36.205-666 - Barbacena – MG - Brasil
Tel.: 55 32 3331-4489
CNPJ: 00.562.583/0001-44
www.renylab.ind.br
Responsável técnico: Dr. Renê Vaz de Mello.
CRF-MG:2709
MS: 80002670074