

## 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 Defi cient 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. APRESENTAÇÃO:

| APRESENTAÇÃO             | CÓDIGO | QTD    |
|--------------------------|--------|--------|
| ÁGAR CLED - 90X15MM      | 1171   | PCT 10 |
| ÁGAR CLED DUAL - 90X15MM | 1172   | PCT 10 |

## 4. COMPOSIÇÃO:

|                          |            |
|--------------------------|------------|
| PEPTONA .....            | 4 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    |

## 5. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

Este produto deve ser armazenado em temperatura de 2 a 8°C, imediatamente após seu recebimento. Para fins de transporte, poderá permanecer em temperatura entre 2 a 25°C.

## 6. AMOSTRAS:

Urina.

## 7. MATERIAIS NECESSÁRIOS (não fornecidos)

- Estufa bacteriológica.
- Swab.
- Alça bacteriológica.

## 8. PROCEDIMENTO TÉCNICO:

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

## 9. RESULTADOS

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

| MICROORGANISMOS                          | 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., Klebsiella ssp</i> | Colônias muito mucosas, cor variável de amarelo a branco azulado.   |
| <i>Salmonella ssp., 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 negativa ou positiva;
- Espécies de *Shigella* não crescem em meios deficientes em eletrólitos.

#### 10. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Na presença de aparecimento de quaisquer estruturas, que remetam a possível contaminação, o produto deve ser imediatamente descartado.
- 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. O cuidado com o acondicionamento e exposição do meio a estas variações de temperatura são fundamentais para a manutenção da qualidade do produto.
- O cuidado com o acondicionamento e exposição do meio a estas variações de temperatura são fundamentais para a manutenção da qualidade do produto.
- 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.

#### 11. 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.

#### 12. PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

- Somente para uso diagnóstico "in vitro".
- Não usar após data de validade, produto avariados e/ou com embalagens violadas.
- Antes de descartar o material usado, autoclavar a 121° C por 15 minutos.
- Descartar o produto e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- Observar a correlação da versão das instruções de uso e o produto adquirido, conforme disponibilizado no site: [www.renylab.ind.br](http://www.renylab.ind.br).

#### 13. GARANTIA DA QUALIDADE:

A RenyLab obedece ao 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 materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas.

- 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 poderão ser obtidos no site [www.renylab.ind.br](http://www.renylab.ind.br).

- Em caso de dúvidas, problemas de origem técnica, ou necessidade de obtenção dos mesmos em formato impresso entrar em contato com o SAC (Serviço de Atendimento ao Consumidor) através do telefone (32) 3331-4489 ou pelo e-mail [sac@renylab.ind.br](mailto:sac@renylab.ind.br).

- Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da RenyLab, assim como o envio de documentos em formato não impresso, serão enviados sem custos adicionais ao cliente.

#### 14. DEPARTAMENTO DE SERVIÇOS ASSOCIADOS:

Para esclarecimentos de dúvidas do consumidor quanto ao produto: Telefax: (32) 3331-4489 [sac@renylab.ind.br](mailto:sac@renylab.ind.br)

Nº DO LOTE, DATA DE VALIDADE – VIDE RÓTULO

#### 15. TERMO DE GARANTIA

A RenyLab garante a troca deste produto, desde que o mesmo esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado por sua Assessoria Técnica que não houve falhas na execução, manuseio e conservação deste produto. A RenyLab e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho de produtos sob essas condições.

#### 16. REFERÊNCIAS 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

#### 17. FABRICADO E DISTRIBUÍDO 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.

Site: [www.renylab.ind.br](http://www.renylab.ind.br)

Responsável técnico: Renata C. Vaz de Mello.

CRF-MG: 12126

#### 18. SIMBOLOGIA

| SIGNIFICADO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NO RÓTULO DO PRODUTO                          |   |
|---|---|
|  | Data limite de utilização do produto (dd/mm/aaaa) |
|  | Limite de temperatura (conservar a)               |