

1. FINALIDADE:

Meio não seletivo para o isolamento, identificação presuntiva, diferenciação e enumeração de agentes patogênicos do aparelho urinário.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO:

A *Escherichia coli*, os *Enterococos* e os grupos *Klebsiella-Enterobacter-Serratia-Citrobacter* (KESC) e *Proteus-Providencia-Morganella* (PPM) são os organismos mais frequentemente responsáveis pelas infecções do aparelho urinário (=IAU). Entre sessenta e 70% das ITU são provocadas pela *E. coli* em cultura pura ou juntamente com *Enterococos*. O *Staphylococcus saprophyticus* e o *Streptococcus agalactiae* são, embora menos frequentemente, encontrados nas IAU das mulheres. Devido às diferentes susceptibilidades antimicrobianas dos agentes envolvidos, é necessário realizar grande número de testes bioquímicos para identificar as respectivas espécies de modo a poder aplicar uma terapêutica antimicrobiana eficaz. As espécies ou grupos de organismos mais frequentemente isolados produzem enzimas característicos. Deste modo, é possível identificar estes organismos relativamente ao nível de espécies com um número limitado de testes de utilização e fermentação de substratos 1, 2. Alguns dos organismos envolvidos produzem enzimas, quer para o metabolismo da lactose, quer dos glucosídeos, quer de ambos, ao passo que outros não produzem nenhuma destas enzimas. Como exemplo, a *E. coli* produz enzimas provenientes do metabolismo da lactose, mas é negativa para a β -glucosidase. Outros membros da família *Enterobacteriaceae* são positivos para a β -glucosidase, mas não contêm as enzimas necessárias para a fermentação da lactose, podendo outros conter os dois tipos de enzimas ou mesmo nenhuma delas. As betaglicosidasas também se encontram nos cocos Gram positivos, como por exemplo os *Enterococcus spp.* e os *Streptococcus agalactiae*. A triptofano deaminase (TDA) é uma enzima que se encontra caracteristicamente no grupo de organismos *Proteus-Morganella-Providencia*.

3. APRESENTAÇÃO:

APRESENTAÇÃO	CÓDIGO	QTD
CROMOGÊNICO UROCULTURA - 90X15MM	1200	PCT 10
CROMOGÊNICO UROCULTURA - 90X15MM – EXPORTAÇÃO	5822	PCT 10
CROMOGÊNICO UROCULTURA DUAL - 90X15MM	3707	PCT 10
CROMOGÊNICO UROCULTURA TRIAL - 90X15MM	3679	PCT 10

4. COMPOSIÇÃO:

CROMOPEPTONA-----	16 g/L
FATORES DE CRESCIMENTO -----	5 g/L
MISTURA CROMOGÊNICA -----	1,3 g/L
ÁGAR -----	15 g/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:

- Podem ser utilizadas amostras clínicas como: urina, secreções e outros fluidos corpóreos, materiais biológicos diversos, amostras ambientais ou quaisquer outras amostras passíveis de conter os microrganismos com capacidade de se desenvolver neste produto.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

7. MATERIAIS NECESSÁRIOS (não fornecidos)

- Estufa bacteriológica.
- Alça bacteriológica.
- Reativo de Kovacs.

8. PROCEDIMENTO TÉCNICO:

1. Deixar que as placas e a amostra adquiram a temperatura ambiente;
 2. Introduzir uma alça bacteriológica calibrada estéril na amostra, e distribuir sobre a superfície do meio, e a seguir levar a placa à estufa;
 3. Incubar o material em estufa bacteriológica a 35° C por 18h a 24h;
 4. Evitar exposição à luz durante a incubação;
 5. Havendo crescimento, proceder à contagem de colônias no meio (caso a metodologia o exija), multiplicando-se o número de colônias contadas pelo fator de diluição da alça para obter o resultado em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de amostra (UFC/ mL);
- Exemplo:** usando-se uma alça 1/100, caso sejam contadas 25 colônias na superfície do meio, multiplica-se este número por 100 e obtém-se o resultado de 2500 UFC/mL.

6. Analisar o desenvolvimento de cor no meio, utilizando os reagentes auxiliares.

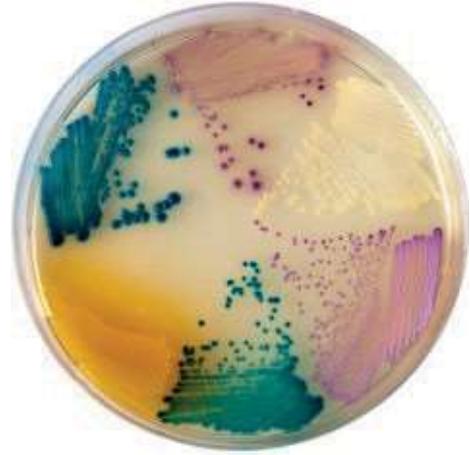
7. **Prova do Indol:** colocar uma gota do reagente de Kovac's sobre a colônia, o desenvolvimento de coloração vermelha ou rósea indica positividade;

9. RESULTADOS

Após a incubação observe a cor das colônias e interprete os resultados conforme indicado na tabela abaixo:

COR DAS COLÔNIAS	MICROORGANISMOS	PROVAS COMPLEMENTARES
Colônias Róseas, Magenta a Avermelhadas	<i>Escherichia coli</i> ; <i>S. saprophyticus</i>	Teste do Indol; Coloração de gram.
Colônias Verde azuladas a Azul metálico (colônias grandes, Mucoides ou não)	<i>Klebsiella spp.</i> ; <i>Enterobacter spp.</i> ; <i>Citrobacter spp.</i> (Grupo KESC)	Confirmar com provas bioquímicas.
Colônias Verde azuladas a Azul metálico (colônias pequenas, secas ou brilhantes)	<i>Enterococcus spp.</i>	Confirmar com provas bioquímicas.
Incolores a Brancas	<i>Staphylococcus spp.</i> ; <i>Streptococcus spp.</i> <i>Candida spp.</i> ; <i>Acinetobacter spp.</i> entre outras.	Executar a coloração de gram: Gram positivo: <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> ou <i>Candida spp.</i> Se gram negativo: Prova do indol reagente de Kovacs, se positiva provável <i>E. coli</i> sem afinidade aos substratos cromógenos. Prova da oxidase. Realizar provas bioquímicas complementares.
Amarela a Marrom Obs.: Algumas cepas de <i>Proteus vulgaris</i> podem apresentar colônias esverdeadas, com halos marrons ao redor das colônias.	<i>Staphylococcus spp.</i> ; Grupo PPM (<i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> , <i>Morganella</i>).	Executar a coloração de gram: Gram positivo: <i>Staphylococcus spp.</i> Gram negativo: devido ao grande número de possibilidades e recomendado realizar provas bioquímicas complementares.

Cinza a creme ou levemente esverdeada.	<i>Pseudomonas spp.</i> ; Bacilos não fermentadores da glicose.	Realizar prova da Oxidase.
--	--	----------------------------



10. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Uma vez que este meio não é seletivo, outros agentes patogênicos urinários irão desenvolver-se. As colônias que apresentam a sua cor natural e que não reagem com os substratos cromogênicos têm de ser submetidas a outros processos de diferenciação com os testes bioquímicos ou sorológicos apropriados. Consultar a bibliografia.
- As colônias de *E. coli* que se apresentam cor-de-rosa escuro a vermelho claro, mas que têm dimensão diminuta a pequena, têm de ser submetidas a outros testes de confirmação como, por exemplo, indol com mancha (reagente indol com DMACA).
- Outros bastonetes Gram negativos que não os pertencentes ao grupo KESC podem produzir colônias grandes azuis, sendo por isso necessário realizar outros testes bioquímicos para a respectiva identificação.
- Em casos muito raros, poderão encontrar-se presentes *Listeria monocytogenes* ou outras espécies de *Listeria* na urina (por exemplo, após um aborto provocado por estes agentes). A *Listeria* produzirá colônias de cor azul a azul-verde que são negativas quando submetidas ao teste PIR, à semelhança do que acontece com *Streptococcus agalactiae*. Poderá, por isso, ser útil preparar uma coloração Gram de todas as estirpes que produzam neste meio colônias de dimensão muito pequena a pequena, de cor azul a azul-verde e que têm resultados negativos quando submetidas ao teste PIR. A presença de bastonetes Gram positivos poderá ser um indicativo da presença de espécies de *Listeria*, mas é necessário recorrer a outros testes bioquímicos para confirmar a sua identificação. Em casos muito raros, os

isolados de *Aeromonas hydrophila* podem produzir colônias cor-de-rosa a vermelho claro. Poderão diferenciar-se da *E. coli* através de um teste de oxidase (*Aeromonas* = positivo; *E. coli* = negativo).

- A utilização de substâncias cromógenas na formulação pode acarretar leve foto sensibilidade, recomenda-se proteger o produto da incidência direta da luz.

- 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.

- 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. As placas são inoculadas com as cepas microbianas indicadas na tabela abaixo:

CEPA	RESULTADO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Colônias róseas indol positivo
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 35552	Colônias róseas indol negativo
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Colônias azul esverdeadas
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	Colônias azul escuras

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.

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.

- 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.

- 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

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.
3. MERCK. Manual de medios de cultivo. Darmstadt, 1990.
4. Samra, Z., M. Heifetz, J. Talmor, E. Bain, and J. Bahar. 1998. Evaluation of use of a new chromogenic agar in detection of urinary tract pathogens. J. Clin. Microbiol. 36: 990-994.
5. Clarridge, J.E., M.T. Pezzlo, and K.L. Vosti. 1987. Cumitech 2A, Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Forbes, B.A., and P.A. Granato. Processing specimens for bacteria. 1995. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS). Approved Guideline M35. Abbreviated identification of bacteria and yeast, CLSI, Wayne, PA.

CEP: 36.205-666 - Barbacena - MG – Brasil. Tel.: 55 32 3331-4489 CNPJ: 00.562.583/0001-44.

Site: www.renylab.ind.br

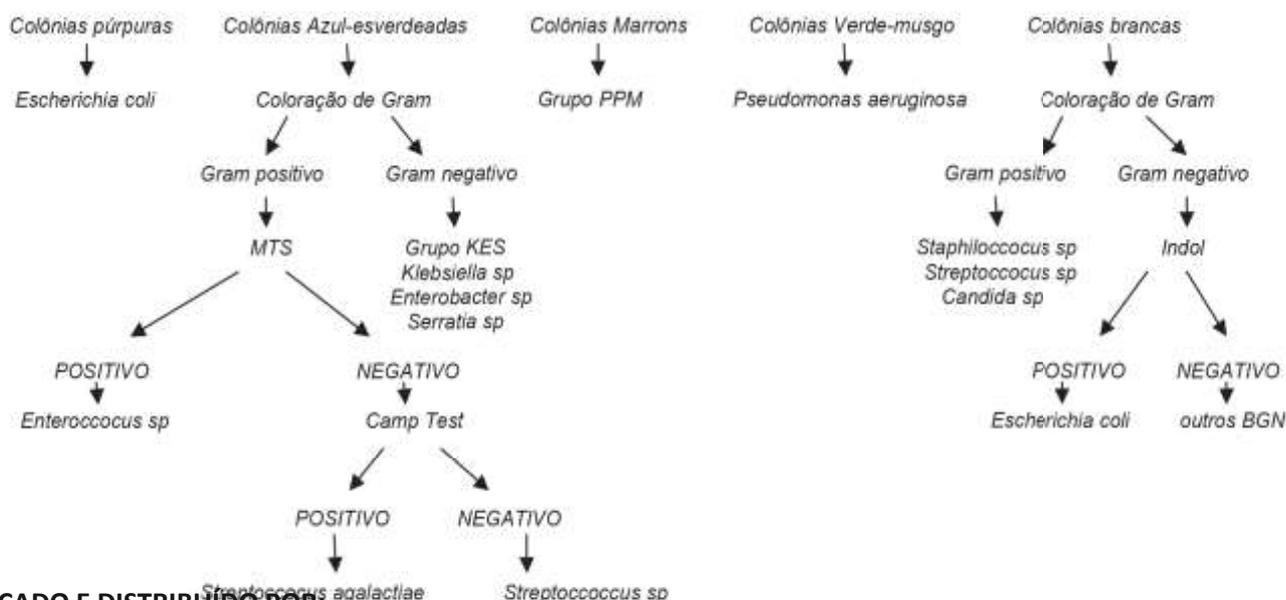
Responsável técnico: Renata C. Vaz de Mello.

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)

ESQUEMA DE IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA ÁGAR CROMOGÊNICO UROCULTURA



17. FABRICADO E DISTRIBUÍDO POR:

RenyLab Química e Farmacêutica Ltda.
Rodovia BR 040 km 697 Caiçaras.