

AGAR SANGUE/CHOCOLATE/MAC CONKEY

Triagem de cultura de amostras clínicas

NOME TÉCNICO

Ágar Sangue de Carneiro (Base TSA) / Ágar Chocolate Suplementado / Ágar Mac Conkey

APRESENTAÇÃO

Pacote com 10 triplacas 90x15mm – Cód. PA334

COMPOSIÇÃO

Formulação	g/L
Ágar Sangue (base TSA)	
Hidrolisado pancreático de caseína	15,0
Hidrolisado enzimático de soja	5,0
Cloreto de sódio	5,0
Ágar bacteriológico	15,0
Sangue de carneiro desfibrinado	50 mL/L
Água purificada	1000 mL
Ágar Chocolate Suplementado	
Peptona de caseína	12,0
Peptona de carne	5,0
Extrato de levedura	3,0
Extrato de carne	3,0
Cloreto de sódio	5,0
Amido de milho	1,0
Ágar bacteriológico	15,0
Sangue de carneiro desfibrinado	50 mL/L
Suplemento VX (Newprov)	10 mL/L
Água purificada	1000 mL
Ágar Mac Conkey	
Peptona de caseína	1,5
Peptona de gelatina	17,0
Peptona de carne	1,5
Cloreto de sódio	5,0
Lactose	10,0
Sais biliares n.º 3	1,5
Cristal violeta	0,001
Vermelho neutro	0,03
Ágar bacteriológico	13,5
Água purificada	1000 mL

As formulações podem ser ajustadas e/ou suplementadas, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

REGISTRO NO MINISTÉRIO DA SAÚDE

10287910063

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Conservar o produto sob refrigeração (2º a 8º C).

Válido por 120 dias após a fabricação.

Verificar o prazo de validade na embalagem.

Nunca utilizar produtos com sua validade expirada.

Este produto apresenta na sua composição elevada porcentagem de água, por isso ao sofrer variações de temperatura ele pode apresentar água de condensação em quantidades variadas, ocasionando o acúmulo de água na placa.

A água acumulada na placa por variação de temperatura não altera o desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento, contaminação, ou seja, alteração no aspecto do produto.

O uso de refrigerador frost-free não é recomendado para os meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Recomenda-se guardar as placas com o meio de cultura virado para cima, e quando ocorrer o acúmulo de água, desprezar a água de condensação e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura ambiente antes de sua utilização. Retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto a ser utilizado na rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada antes da sua utilização, em temperatura ambiente ou incubar em estufa $\pm 37^{\circ}\text{C}$. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, pois a constante troca de

temperatura, pode ocasionar a desidratação do meio, expor o produto a contaminação ou gerar acúmulo excessivo de água.

TRANSPORTE

O produto pode ser transportado em temperatura ambiente (10 a 30º C) por até 120 horas.

CUIDADOS ANTES DO USO

Não utilizar placas com gotículas de água na superfície. Caso existam gotículas de água secar a placa em estufa microbiológica antes do uso.

Por tratar-se de material estéril, manusear o produto utilizando equipamentos de proteção individual (luvas, avental e máscara) em ambiente com assepsia de preferência em cabine de segurança biológica classe II.

Não usar materiais com selo de qualidade rompido ou violado.

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS COM O PRODUTO

Alça bacteriológica, frascos estéreis e swabs para coleta das amostras; fluxo laminar, bico de bunsen; estufa bacteriológica; microscópio ótico; incubadores para tensão de CO₂.

INFORMAÇÕES TÉCNICAS

- FINALIDADE

O ágar sangue é um meio de cultura altamente nutritivo, adicionado de sangue de carneiro desfibrinado estéril para cultivo e isolamento de micro-organismos fastidiosos, favorecendo a observação de reações hemolíticas precisas. O ágar sangue produzido com meio base ágar triptico de soja é amplamente utilizado para cultivo e isolamento das espécies que produzem reações hemolíticas características para a sua identificação presumtiva, como os estreptococos.

O ágar chocolate suplementado é um meio de cultura rico, adicionado de sangue de carneiro desfibrinado estéril em temperatura adequada para lise das hemácias e liberação de componentes essenciais para cultivo e isolamento de microrganismos fastidiosos. Além destes fatores naturais do sangue, é adicionado ao meio o suplemento VX para otimizar a recuperação de bactérias exigentes e/ou estressadas. É portanto indicado principalmente para isolamento de *Neisseria* spp e *Haemophilus* spp presentes em amostras não potencialmente contaminadas, como líquido cefalorraquidiano e outros líquidos corporais normalmente estéreis, além de caldos das hemoculturas onde foi detectada evidência de crescimento bacteriano.

O ágar Mac Conkey tem por finalidade isolar e diferenciar os principais micro-organismos gram negativos encontrados nas diferentes amostras clínicas e ambientais, especialmente as enterobactérias isoladas de urina e fezes, bem como de água, alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos. O meio contém cristal violeta e sais biliares para inibir microrganismos gram positivos e favorecer o crescimento de gram negativos. A presença de lactose permite a diferenciação inicial das bactérias isoladas em fermentadoras e não-fermentadoras da lactose, útil para o reconhecimento de coliformes e enteropatógenos como *Salmonella* spp e *Shigella* spp.

- AMOSTRA

Podem ser utilizadas amostras de qualquer natureza clínica como: urina, secreções e outros fluidos corpóreos, materiais biológicos diversos, amostras ambientais ou quaisquer outras amostras passíveis de conter os micro-organismos com capacidade de se desenvolver nestes meios.

Por tratar-se de material biológico, manusear a amostra clínica de acordo com as normas de biossegurança e utilizar equipamentos de proteção individual (luvas, avental e máscara) de preferência em cabine de segurança biológica classe II.

- TÉCNICA DE USO

INOCULAÇÃO

Semear por esgotamento através de estrias, diretamente sobre o meio, com alça bacteriológica, conforme descrito na literatura para a amostra clínica específica.

INCUBAÇÃO

Incubar o material sob tensão de CO₂ em estufa bacteriológica entre 35 e 37º C por 18 a 24 horas;

Após a incubação, verificar se houve crescimento e ocorrência de hemólise, quando aplicável;

Alguns micro-organismos podem necessitar de um período maior de incubação, logo se não ocorrer crescimento nas primeiras 24 horas, ou caso o crescimento apresentado não seja o suficiente, incubar o material sob tensão de CO₂ em estufa bacteriológica entre 35 e 37º C, por mais 18 a 24 horas.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Características coloniais dos principais micro-organismos isolados em ágar sangue:

MICRO-ORGANISMO	CARACTERÍSTICA DA COLÔNIA
<i>Staphylococcus aureus</i>	Médias, com pigmento amarelo ou cinza caramelo e geralmente beta hemolíticas
<i>Estafilococos</i> coagulase negativa	Pequenas a médias, geralmente brancas e não hemolíticas
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Pequenas, com hemólise (beta) acentuada
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pequenas e umbilicadas, alfa hemolíticas
<i>Enterococcus</i> spp	Pequenas a médias, acinzentadas, alfa, gama ou beta hemolíticas
<i>Escherichia coli</i>	Grandes, lisas e brilhantes com hemólise beta ou gama
<i>Proteus mirabilis</i>	Médias a grandes, translúcidas, com crescimento em véu (<i>swarming</i>) e odor fétido
<i>Klebsiella</i> spp	Grandes, de bordas bem definidas. Aspecto mucóide (<i>butiroso</i>) e brilhoso
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Médias a grandes, foscas com bordas irregulares típicas. Odor adocicado, às vezes com pigmento metálico brilhante

Corinebacterias	Puntiformes a pequenas, incolores
Leveduras (<i>Candida</i> spp)	Pequenas a médias, brancas com bordas lisas ou irregulares (espículas)

Características coloniais dos principais micro-organismos isolados em ágar chocolate:

MICRO-ORGANISMO	CARACTERÍSTICA DA COLÔNIA
<i>Haemophilus influenzae</i>	Dimensões pequenas (1 mm), úmidas, aspecto de pérola e odor característico
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Dimensões pequenas (1 a 2 mm), de incolores a brancas acinzentadas e mucoides
<i>Neisseria meningitidis</i>	Dimensões de médias a grandes (2 a 8 mm), incolores a levemente cinzas, por vezes apresentam uma tonalidade azulada, mucoides
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Colônias baixas, de dimensões pequenas (1 a 3 mm), habitualmente brilhantes, com coloração esverdeada
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Colônias redondas, convexas, opacas, dimensões pequenas (1 a 3 mm), colorações variando entre cinza claro a levemente esverdeado, quando tocadas deslizam sobre o meio de cultura permanecendo intactas

Características coloniais dos principais micro-organismos isolados em ágar Mac Conkey:

MICRO-ORGANISMO	CARACTERÍSTICA DA COLÔNIA
<i>Escherichia coli</i>	Grandes, róseo intensas, secas e opacas com odor de fermento. Um precipitado fosco de bile ao redor das colônias é comumente observado
<i>Proteus mirabilis</i>	Incolores e translúcidas com bordas irregulares. Odor fétido
<i>Klebsiella</i> spp.	Grandes, rosa ou rosa claras, brilhantes, com bordas bem definidas. Aspecto mucóide
<i>Enterobacter</i> spp.	Grandes, amarelas ou amarelo claras, brilhantes, com bordas irregulares e aspecto mucóide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Médias a grandes, incolores ou esverdeadas. Foscas com bordas irregulares típicas. Odor adocicado, às vezes com pigmento castanho brilhante
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Médias, incolores ou com tom róseo após incubação prolongada (48 h)
<i>Staphylococcus</i> spp.	Crescimento inibido
<i>Enterococcus</i> spp.	Crescimento inibido
<i>Corynebacterium</i> spp.	Crescimento inibido

DESEMPENHO DO PRODUTO

- ESPECIFICIDADE

Enterobactérias
Pseudomonas spp.
Stenotrophomonas maltophilia
Acinetobacter spp.
Staphylococcus spp.
Enterococcus spp.
Streptococcus grupos A, B, C e G
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus grupo viridans
Haemophilus influenzae
Moraxella catarrhalis
Listeria monocytogenes
Pasteurella multocida
Campylobacter jejuni e *coli*
Corynebacterium spp.
Aerococcus sanguinicola e *urinae*
Kingella kingae

- LIMITE DE DETECÇÃO

100 UFC/mL

DESCARTE DO PRODUTO E DA AMOSTRA

Descartar o produto e a amostra de acordo com o programa de gerenciamento de resíduos do laboratório e legislações vigentes.

* Para o produto sem contato com a amostra seguir o plano de gerenciamento de resíduos químicos.

* Para a amostra e produto com amostra seguir plano de gerenciamento de resíduos infectantes ou possivelmente infectantes.

* Após incubação o produto deverá ser autoclavado a 121° C por 30 minutos e descartado em lixo apropriado.

CONTROLE DE QUALIDADE

ANÁLISES ÁGAR SANGUE	RESULTADO ESPERADO
pH final a 25° C	7,3 ± 0,1
Aspecto final	Meio vermelho sangue opalescente
Desempenho microbiológico <i>E. coli</i> ATCC 25922 Inóculo ~ 1000 UFC	Crescimento excelente de colônias grandes, acinzentadas e brilhantes

Desempenho microbiológico <i>S. aureus</i> ATCC 25923 Inóculo ~ 1000 UFC	Crescimento excelente de colônias grandes, amareladas e opacas
Desempenho microbiológico <i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619 Inóculo ~ 1000 UFC	Crescimento moderado a bom de colônias pequenas α hemolíticas
Desempenho microbiológico <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615 Inóculo ~ 1000 UFC	Crescimento moderado a bom de colônias pequenas β hemolíticas
Esterilidade	Ausência de crescimento
ANÁLISES ÁGAR CHOCOLATE	RESULTADO ESPERADO
pH final a 25° C	7,3 ± 0,1
Aspecto final	Meio castanho opalescente
Desempenho microbiológico <i>N. meningitidis</i> ATCC 13090 Inóculo ~ 1000 UFC	Crescimento moderado a bom de colônias pequenas translúcidas
Desempenho microbiológico <i>H. influenzae</i> ATCC 10211 Inóculo ~ 1000 UFC	Crescimento moderado a bom de colônias médias translúcidas
Esterilidade	Ausência de crescimento
ANÁLISES ÁGAR MAC CONKEY	RESULTADO ESPERADO
pH final a 25° C	7,1 ± 0,2
Aspecto final	Meio rosado translúcido, ligeiramente opalescente
Desempenho microbiológico <i>E. coli</i> ATCC 25922 Inóculo ~ 10.000 UFC	Crescimento excelente de colônias vermelhas com precipitado de bile
Desempenho microbiológico <i>P. mirabilis</i> ATCC 25933 Inóculo ~ 10.000 UFC	Crescimento excelente de colônias incolores, sem swarming
Desempenho microbiológico <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 Inóculo ~ 10.000 UFC	Crescimento ausente
Esterilidade	Ausência de crescimento

GARANTIA DA QUALIDADE

Este produto é fabricado e liberado para venda após testes de controle de qualidade para cada lote, conforme normas das Boas Práticas de Fabricação e Controle de produtos para diagnóstico de uso *in vitro*.

Para eficácia do produto é necessário:

- Utilizar amostras clínicas coletadas, transportadas e armazenadas de acordo com a indicação da literatura especializada;
- Seguir rigorosamente todas as etapas descritas nesta instrução de uso.
- Utilizar acessórios e equipamentos adequados e em boa conservação.
- Transportar e armazenar o produto de acordo com as condições indicadas.
- Nunca utilizar produtos com a embalagem original danificada.
- Nunca utilizar produto com prazo de validade expirado.

Caso ocorra qualquer problema na utilização do produto relativo à qualidade intrínseca do mesmo, que tenha ocorrido por falha de fabricação comprovada, a Newprov resolverá a questão sem ônus ao cliente, conforme determinado na Lei 8.078/90 – Código de Defesa do Consumidor.

A Newprov disponibiliza aos seus clientes, assessoria técnico-científica para quaisquer esclarecimentos necessários quanto a utilização deste produto que não estejam contemplados nesta instrução de uso, através de contato com o SAC - Serviço de Atendimento ao Consumidor.

Certificados de análise de cada lote estão disponíveis na empresa e podem ser encaminhados ao cliente sempre que solicitados ao SAC ou acesso pelo site www.newprov.com.br após cadastro no campo de acesso restrito.

A versão atual da instrução de uso encontra-se disponível no site www.newprov.com.br. Na necessidade da versão impressa, solicitar sem custo adicional (inclusive de envio) ao nosso SAC pelo (41) 38881300 ou sac@newprov.com.br.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIFCO & BBL MANUAL. **Manual of Microbiological Culture Media**. Maryland: Becton, Dickinson and Company, 2003.
 ISENBERG, H. D. (Ed.) **Clinical Microbiology Procedures Handbook**. 2nd Ed. Washington DC: ASM, 2004.
 MANUAL OXOID. São Paulo: Oxoid Brasil Ltda., 2000.
 MURRAY, P. R. et al. (Eds) **Manual of Clinical Microbiology**. 9th Ed. Washington D.C.: ASM, 2007.
 NCCLS. **Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media**. 2nd Ed. NCCLS Document M22-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1996.
 WINN JR., W. ET AL (EDS.) **KONEMAN'S COLOR ATLAS AND TEXTBOOK OF DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY**. 6TH ED. PHILADELPHIA: LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, 2006.

PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO DE USO *IN VITRO*

Fabricado e distribuído por:

Newprov Produtos para Laboratório Ltda

Rua 1º de Maio, 590/608 - Centro - CEP: 83323-020 - Pinhais - PR

CNPJ: 17.636.391/0001-09

Responsável Técnica:

Bárbara Pereira Albini – CRF/PR 19057

Indústria Brasileira

Serviço de Assessoria e Soluções de excelência em análises laboratoriais