



BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplaca)

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplaca)** é utilizado para análises microbiológicas de urina. O CLED Agar é um meio de cultura para diferenciação utilizado no isolamento e enumeração de bactérias na urina. O MacConkey II Agar é um meio selectivo para diferenciação utilizado para o isolamento e diferenciação de *Enterobacteriaceae* e uma variedade de outros bastonetes gram-negativos provenientes de amostras clínicas e não-clínicas.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

CLED Agar: Em 1960, Sandys referiu o desenvolvimento de um novo método para evitar a proliferação de *Proteus* em meios sólidos, limitando os electrólitos no meio de cultura que foi posteriormente modificado para ser utilizado em culturas de urina.¹⁻³ Este meio foi designado como meio de cistina lactose deficiente em electrólitos (CLED) e demonstrou ser ideal para bacteriologia urinária.

No CLED Agar, as peptonas e o extracto de carne fornecem nutrientes. A lactose constitui uma fonte de energia para os organismos com capacidade para utilizá-la através de um mecanismo fermentativo. O azul de bromotimol é um indicador de pH para diferenciar os fermentadores da lactose dos não fermentadores da lactose. Os organismos que fermentam a lactose irão reduzir o pH e alterar a cor do meio de verde para amarelo. A cistina permite o crescimento de bactérias coliformes "de colónias anãs".³ As fontes de electrólitos são reduzidas para minimizar a proliferação de espécies de *Proteus*.

MacConkey II Agar: Uma das primeiras formulações de meios para diferenciação de *Enterobacteriaceae* foi desenvolvida por MacConkey, tendo sido publicado em 1900 e 1905.^{4,5} Esta formulação foi concebida sabendo-se que os sais biliares são precipitados por ácidos e que determinados microrganismos entéricos fermentam a lactose ao passo que outros não têm esta capacidade. Mais tarde, este meio foi modificado várias vezes.^{6,7}

O ágar de MacConkey é apenas ligeiramente selectivo uma vez que a concentração de sais biliares, que inibe os microrganismos gram-positivos, é reduzida relativamente a outros meios entéricos em placas. Este meio é recomendado para utilização com amostras clínicas com probabilidade de conter flora microbiana mista como, por exemplo, a urina e muitos outros, porque permite um agrupamento preliminar de *Enterobacteriaceae* e outros bastonetes gram-negativos em fermentadores da lactose e não fermentadores da lactose.⁷⁻¹⁰

A formulação de MacConkey II Agar foi concebida para potenciar a inibição da proliferação da espécie *Proteus*, para conseguir uma melhor diferenciação dos organismos fermentadores e não fermentadores da lactose e para um maior desenvolvimento.

No MacConkey II Agar, as peptonas fornecem os nutrientes. O cristal violeta inibe as bactérias gram-positivas, especialmente os enterococos e os estafilococos. A diferenciação de microrganismos entéricos faz-se através da combinação de lactose e do indicador de pH vermelho neutro. São produzidas colónias incolores ou cor-de-rosa a vermelho, dependendo da capacidade do isolado para fermentar o hidrato de carbono.

A presença de CLED e MacConkey II Agar nesta biplaca permite a determinação da contagem total e o isolamento de bactérias gram-positivas e gram-negativas em amostras de urina.

REAGENTES

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplaca)

Fórmula* por litro de água purificada

Ágar CLED		MacConkey II Agar	
Hidrolisado pancreático de gelatina	4,0 g	Hidrolisado pancreático de gelatina	17,0 g
Hidrolisado pancreático de caseína	4,0	Hidrolisado pancreático de caseína	1,5
Extracto de bovino	3,0	Hidrolisado péptico de tecido animal	1,5
Lactose	10,0	Lactose	10,0
L-cistina	0,128	Sais biliares	1,5
Azul de bromotimol	0,02	Cloreto de sódio	5,0
Agar	15,0	Vermelho neutro	0,03
pH 7,3 ± 0,2		Violeta cristal	0,001
		Agar	13,5
		pH 7,1 ± 0,2	

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

PRECAUÇÕES

Para Diagnóstico In Vitro **IVD**. Apenas para uso profissional. ☒

Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, segura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

ARMAZENAGEM e PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar no escuro a uma temperatura entre 2 e 8 °C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até terminar o prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8 °C.

CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular amostras representativas com as seguintes estirpes (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incube as placas a 35 ± 2 °C numa atmosfera aeróbia.

Examinar as placas após 18 a 24 h para registar o grau de crescimento, a pigmentação, o tamanho da colónia e a inibição da proliferação/propagação de *Proteus*.

Estirpes	Ágar CLED	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescimento; colónias amarelas, meio amarelo	Crescimento; colónias cor-de-rosa
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Crescimento; colónias incolores a azuis; proliferação inibida; ligeira propagação aceitável	Crescimento; colónias incolores a beges; proliferação inibida
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crescimento; colónias incolores a amarelas; meio amarelo	Inibição parcial a completa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescimento; colónias de pequena dimensão, amarelas; meio amarelo	Inibição parcial a completa
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> NCTC 10516	Crescimento; colónias de pequena dimensão, brancas a amareladas; meio amarelo	Inibição parcial a completa
Sem inoculação	Verde a verde-azulado	Cor-de-rosa claro, ligeiramente opalescente

PROCEDIMENTO

Material fornecido

BD CLED Agar / MacConkey II Agar (90 mm Biplacas). Microbiologicamente controlado.

Material não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Tipos de amostra e colheita de amostras

Este meio destina-se exclusivamente à enumeração e diferenciação de bactérias na urina. É possível utilizar urina de jacto médio ou urina de cateterização ou urina colhida através de uma punção supra-púbica na bexiga (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**). Cumprir as técnicas assépticas para a colheita de amostras de urina. A urina deve ser directamente espalhada no meio num período de tempo não superior a 2 h após a colheita ou deve ser mantida no frigorífico (por um período inferior a 24 h) para evitar o crescimento excessivo de agentes infecciosos ou contaminantes antes da inoculação deste meio.⁸⁻¹¹

Procedimento do Teste

Colher uma amostra de urina não diluída e bem misturada utilizando uma ansa calibrada (0,01 ou 0,001 mL) para cada um dos dois meios desta biplaca. Certificar-se de que é feita a aplicação adequada da amostra na ansa. Primeiro, coloque uma faixa de amostra da urina no CLED Agar; em seguida, a segunda amostra no MacConkey II Agar. Incubar as placas numa atmosfera aeróbia a 35 ± 2 °C durante 24 a 48 h. Não incubar numa atmosfera aeróbia enriquecida com CO₂.

Cálculo e interpretação dos resultados

Contar o número de colónias (CFU) na placa. Caso tenha sido utilizada uma ansa de 0,01 mL, cada colónia resultante representa 100 CFU/mL; caso tenha sido utilizada uma ansa de 0,001 mL, cada colónia corresponde a 1000 CFU/mL de urina.⁸

Urina de jacto médio e cateterização: As linhas de orientação actuais indicam que para um único isolado uma densidade de $\geq 10^5$ CFU/mL indica infecção, uma densidade de $<10^5$ CFU/mL indica contaminação uretral ou vaginal e entre 10^4 a 10^5 CFU/mL necessita de ser novamente avaliada com base na informação clínica.⁸⁻¹¹

Urina colhida através punção supra-púbica na bexiga: Uma vez que a bexiga é estéril em indivíduos não infectados, quaisquer cfu detectadas indicam uma infecção.

Os agentes patogénicos urinários irão normalmente dar origem a contagens elevadas apresentando uma morfologia de colónias uniforme, enquanto as bactérias contaminantes aparecem normalmente em número reduzido com variações na morfologia das colónias.

Enquanto o CLED Agar permite o desenvolvimento de bactérias gram-positivas e gram-negativas, as bactérias gram-positivas são parcial a completamente inibidas no MacConkey II Agar.

O desenvolvimento no Meio MacConkey II Agar indica a presença de bastonetes gram-negativos, por exemplo, *Enterobacteriaceae* (como *E. coli* e muitos outros).

CLED e MacConkey II Agar só permitem uma diferenciação presumível de colónias de acordo com a fermentação da lactose. Para a identificação completa e para determinação da sensibilidade anti-microbiana, devem ser realizados testes adicionais.¹⁰⁻¹²

A morfologia típica das colónias no **BD CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplaca)** é a seguinte:

Organismos	Agar CLED	MacConkey II Agar
<i>Escherichia coli</i>	Colónias amarelas, opacas; meio amarelo	Crescimento; colónias cor-de-rosa
<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	Colónias amarelas a azuis esbranquiçadas, muitas vezes mucóides; meio amarelado	Mucóide, colónias cor-de-rosa
<i>Proteus</i>	Colónias azuis translúcidas; meio verde azulado a azul	Crescimento; colónias incolores a beges; proliferação inibida
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colónias verdes com superfície típica mate e periferia irregular; meio azul	Colónias irregulares, incolores a cor-de-rosa
Enterococos	Colónias de pequena dimensão, amarelas, meio amarelo	Inibição parcial a completa
<i>Staphylococcus aureus</i>	Colónias amarelas escuras, de cor uniforme; meio amarelo	Inibição parcial a completa
Estafilococos negativos para a coagulase	Colónias amarelas pálidas, mais opacas que o enterococci	Inibição parcial a completa

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O CLED Agar é apropriado para o isolamento e contagem de muitos microorganismos de crescimento aeróbio, como as *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e outros bastonetes gram-negativos não fermentadores, os enterococos, estafilococos, espécies de *Candida* e muitos outros relativamente a amostras de urina.

Os estreptococos e outros organismos que necessitam de sangue ou soro para crescerem poderão ser apenas recuperados de forma insuficiente ou poderão necessitar de uma incubação mais prolongada. Por essa razão, a amostra deverá também ser submetida a cultivo numa placa de ágar de sangue, caso se preveja o aparecimento destes organismos.

Neste meio, não se verifica o crescimento de agentes patogénicos do aparelho genitourinário como, por exemplo, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma*, ou outros organismos exigentes. Consultar a bibliografia apropriada para mais informações sobre as técnicas de detecção apropriadas para estes organismos.^{9,10,12}

Embora possa ser efectuada uma diferenciação de acordo com a fermentação da lactose e alguns testes de diagnóstico directamente neste meio, é necessária a realização de testes bioquímicos para uma completa identificação e, se indicado, a realização de testes imunológicos usando culturas puras.¹⁰⁻¹²

O MacConkey II Agar é um dos meios padrão utilizados para a colocação primária de amostras clínicas em placas e para uma variedade de materiais não clínicos. Neste meio, verificar-se-á o crescimento de todos os organismos da família *Enterobacteriaceae* e uma variedade de outros bastonetes gram-negativos, p.ex., *Pseudomonas* e géneros relacionados. Os não-fermentadores crescem neste meio se estes apresentarem resistência aos seus ingredientes selectivos. Consultar os respectivos capítulos na bibliografia antes de utilizar o meio para organismos específicos.^{8,10}

Tem sido referido que o crescimento de algumas *Enterobacteriaceae* e da *Pseudomonas aeruginosa* é inibido no MacConkey Agar, quando as bactérias são incubadas numa atmosfera enriquecida em CO₂.¹³

Embora possam ser realizados alguns testes de diagnóstico directamente neste meio, para uma completa identificação é necessária a realização de testes bioquímicos e, se indicado, a realização de testes imunológicos usando culturas puras. Consultar a bibliografia apropriada.^{8,10,12}

BIBLIOGRAFIA

1. Sandys, G.H. 1960. A new method of preventing swarming of *Proteus* sp. with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. J. Med. Lab. Technol. 17:224-233.
2. Mackey, J.P., and G.H. Sandys. 1965. Laboratory diagnosis of infection of the urinary tract in general practice by means of a dip-inoculum transport medium. Br. Med. J. 2:1286-1288.
3. Mackey, J.P., and G.H. Sandys. 1966. Diagnosis of urinary infections. Br. Med. J. 1:1173.
4. MacConkey, A.T. 1900. Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli communis* and the *Bacillus typhi abdominalis*. The Lancet, Part II:20.
5. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg. 5:333-379.
6. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
7. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Gatermann, S., et al. 1997. Harnwegsinfektionen. In: Mauch, H, et al. (ed.). MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologischen Diagnostik, vol. 2. Fischer Verlag, Stuttgart, Jena.
10. Gallien, R. 1988. Mikrobiologische Diagnostik in der ärztlichen Praxis – ein Leitfaden. Fischer Verlag, Stuttgart.
11. 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.

12. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO₂ vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.

EMBALAGEM / APRESENTAÇÃO

CLED Agar / MacConkey II Agar (Biplaca)

Nº. de cat. 257562 Meios em placas prontos a usar, 20 placas
Nº. de cat. 257680 Meios em placas prontos a usar, 120 placas



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>
<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, o Logótipo BD e todas as outras marcas comerciais são propriedade da Becton, Dickinson and Company.
© 2016 BD