



BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX)



L007446 • Rev. 10 • Abril 2015

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

I INTRODUÇÃO

O Chocolate II Agar (agar de chocolate II) é um meio enriquecido utilizado para o cultivo de espécies de *Neisseria* e *Haemophilus*.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocular as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Utilizando uma ansa calibrada de 0,01 ml, inocular as superfícies dos tubos inclinados utilizando diluições de 10^{-1} de culturas de Caldo de Soja **Trypticase** com 18 a 24 h.
 - b. Incubar os tubos com as tampas soltas a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono.
2. Examinar os tubos após 18, 24 e 48 h para observar o crescimento.
3. Resultados esperados

Organismos de Controlo (Estirpes ATCC)

**Neisseria gonorrhoeae* (43069)..... Crescimento

**Haemophilus influenzae* (10211)..... Crescimento

Neisseria meningitidis (13090)..... Crescimento

Streptococcus pneumoniae (6305) Crescimento

*Estirpe de organismo recomendada para o Controlo de Qualidade pelo Utilizador.

NOTA: Deverá ser monitorizado pelos utilizadores de acordo com CLSI M22-A3.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examinar os tubos como descrito em "Deterioração do Produto".
2. Examinar visualmente os tubos representativos para se certificar de que quaisquer defeitos físicos existentes não irão interferir com a utilização.
3. Incubar os tubos representativos não inoculados a uma temperatura de $20 - 25^{\circ}\text{C}$ e $30 - 35^{\circ}\text{C}$ e examinar após 7 dias para verificar se apresentam contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O tubo inclinado de Chocolate II Agar (agar de chocolate II) consiste num meio melhorado para utilizar nos procedimentos qualitativos no cultivo de microorganismos exigentes, em especial espécies de *Neisseria* e *Haemophilus*, a partir de uma variedade de amostras clínicas.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

Carpenter e Morton descreveram um meio melhorado para o isolamento do gonococo em 24 h.¹ A eficácia deste meio, Agar GC suplementado com hemoglobina e concentrado de levedura, foi demonstrada num estudo de doze meios utilizados na altura para o isolamento deste organismo.² A BBL melhorou o meio substituindo o concentrado de levedura pelo suplemento de enriquecimento **IsoVitaleX** Enrichment, um suplemento definido quimicamente desenvolvido especialmente para auxiliar o crescimento de gonococos, embora seja amplamente aplicado noutros microorganismos como por exemplo, a *Haemophilus*.³⁻⁵ Através de uma selecção cuidadosa e a realização de testes prévios às matérias primas, o meio de Chocolate II preparado em tubos fomenta o crescimento de gonococos e espécies de *Haemophilus*.

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Chocolate II Agar (agar de chocolate II) contém uma base melhorada de Agar GC II, hemoglobina bovina e o suplemento de enriquecimento **IsoVitaleX** Enrichment. A base GC contém nutrientes de nitrogénio sob a forma de caseína e peptonas de carne, tampão de fosfato para manter o pH e amido de milho, que neutraliza os ácidos gordos tóxicos que possam existir no agar. A hemoglobina fornece o factor X (hemina) para as espécies de *Haemophilus*. O

IsoVitaleX Enrichment é um suplemento definido que fornece o factor V (dinucleótido de adenina nicotinamida, NAD) para as espécies de *Haemophilus* e vitaminas, aminoácidos, coenzimas, dextrose, ião férrico e outros factores que melhoram o crescimento de agentes patogénicos de *Neisseria*.

VII REAGENTES

Chocolate II Agar (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX Enrichment)

Fórmula Aproximada* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de caseína	7,5	g
Peptona de carne seleccionada	7,5	g
Amido de milho	1,0	g
Fosfato dipotássio	4,0	g
Fosfato monopotássico	1,0	g
Cloreto de sódio	5,0	g
Agar	12,0	g
Hemoglobina	10,0	g
IsoVitaleX Enrichment	10,0	mL

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

IsoVitaleX Enrichment

Fórmula Aproximada* por Litro de Água Purificada

Vitamina B ₁₂	0,01	g
L-Glutamina	10,0	g
Adenina	1,0	g
Cloridrato de guanina	0,03	g
Ácido <i>p</i> -aminobenzoico	0,013	g
Dinucleótido de adenina nicotinamida,	0,25	g
Pirofosfato de tiamina	0,1	g
Nitrato férrico	0,02	g
Cloridrato de tiamina	0,003	g
Cloridrato de L-cisteína	25,9	g
L-Cistina	1,1	g
Dextrose	100,0	g

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

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos que têm as tampas fechadas devem ser abertos com cuidado para evitar lesões provocadas pela quebra do vidro.

Cumprir as precauções estabelecidas contra riscos microbiológicos em todos os procedimentos. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilizar em autoclave os tubos preparados, os recipientes das amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos no escuro a uma temperatura entre 2 a 8°C. Evitar congelar e aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os meios que se encontram dentro de tubos que forem armazenados conforme indicado no rótulo, até pouco antes de serem utilizados, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante o período de incubação recomendado. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar os tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser manipuladas com diversas técnicas. Para obter informações mais detalhadas, consulte os textos apropriados.^{6,7} As amostras devem ser colhidas antes de serem administrados os agentes antimicrobianos. Devem tomar-se providências para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

Chocolate II Agar Slants

Materiais necessários mas não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes, organismos de controlo de qualidade e equipamento de laboratório conforme necessário.

Procedimento do teste

Cumprir as técnicas assépticas.

1. Os tubos de Chocolate II Agar (agar de chocolate II) são principalmente utilizados para o cultivo e manutenção de culturas puras. Os tubos deverão ser inoculados com uma ansa cheia de cultura.
2. Colocar as culturas o mais rápido possível num ambiente aeróbio enriquecido com dióxido de carbono.
3. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e examinar após a incubação de um dia para o outro e novamente após decorridas cerca de 48 h.

NOTA: As repicagens para a identificação de *N. gonorrhoeae* deverão ser realizadas no período de 18 a 24 h.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consultar "Procedimentos de controlo de qualidade."

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação locais e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas CLSI e CLIA relativamente às práticas de controlo de qualidade apropriadas.

X RESULTADOS

A morfologia típica das colónias no Chocolate II Agar (agar de chocolate II) é a seguinte:

<i>Haemophilus influenzae</i>	De pequena dimensão (1 mm), húmidas, com aspecto de pérola com um odor característico "tipo rato"
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	De pequena dimensão, brancas-acinzentadas a incolores, mucóides
<i>Neisseria meningitidis</i>	De média a grande dimensão, cinzentas-azuladas, mucóides
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Colónias rebaixadas, de pequena dimensão e brilhantes que apresentam descoloração verde do meio

XI LIMITAÇÃO DO PROCEDIMENTO

O Chocolate II Agar (agar de chocolate II) é um meio enriquecido no qual as bactérias patogénicas poderão crescer demasiado em conjunto com bactérias indesejáveis ou não patogénicas.

Para serem identificados, os organismos têm que estar numa cultura pura. Devem realizar-se testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos para uma identificação final. Consultar os textos apropriados para obtenção de informações detalhadas e procedimentos recomendados.⁶⁻⁸

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Antes da entrega, todos os lotes de Chocolate II Agar slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaléX) são testados quanto às suas características de desempenho. As amostras representativas do lote são inoculadas com 0,01 mL de uma diluição de 10^{-1} de culturas de 24 h de Caldo de Soja Trypticase de *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 43069), *Neisseria meningitidis* (ATCC 13090) e *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211). Os tubos com as tampas soltas são incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono. Após um período de 18 a 24 h de incubação é possível observar o crescimento nos tubos inclinados, sendo moderado e elevado para todos os organismos testados.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de Cat.	Descrição
295872	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaléX), Embalagem de 10 tubos tamanho K
299452	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaléX), Caixa de 100 tubos tamanho K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Carpenter, C.M., and H.E. Morton. 1947. An improved medium for isolation of the gonococcus in 24 hours. Proc. N.Y. State Assoc. Public Health Labs. 27:58-60.
2. Carpenter, C.M., M.A. Bucca, T.C. Buck, E.P. Casman, C.W. Christensen, E. Crowe, R. Drew, J. Hill, C.E. Lankford, H.E. Morton, L.R. Peizer, C.I. Shaw, and J.D. Thayer. 1949. Evaluation of twelve media for the isolation of the gonococcus. Am. J. Syphil. Gonorrh. Venereal Diseases 33:164-176.
3. Power, D.A. (ed.), and P.J. McCuen. 1988. Manual of **BBL** products and laboratory procedures, 6th ed. Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD.
4. Martin, J.E., T.E. Billings, J.F. Hackney, and J.D. Thayer. 1967. Primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium. Public Health Rep. 82:361-363.
5. Vastine, D.W., C.R. Dawson, I. Hoshiwara, C. Yonega, T. Daghfous, and M. Messadi. 1974. Comparison of media for the isolation of *Haemophilus* species from cases of seasonal conjunctivitis associated with severe endemic trachoma. Appl. Microbiol. 28:688-690.
6. 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.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD