



PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE

I INTRODUÇÃO

O Schaedler Broth with Vitamin K₁ é um meio enriquecido de utilização geral para cultura de microrganismos aeróbios e anaeróbios exigentes.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Aqueça os tubos em água quente* e deixe arrefecer com as tampas bem apertadas, antes de utilizar.
*NOTA: Não se recomenda a utilização do forno de microondas.
2. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Inocule os tubos com 1,0 mL de diluição contendo 1000 ou menos UFC/mL para todos os microrganismos, excepto *Clostridium novyi* A. Para o *C. novyi* A, inocule os tubos com 1,0 mL de diluição contendo 1×10^5 a 1×10^6 UFC/mL. Prepare as diluições utilizando culturas em **Trypticase Soy Broth**, com 18 a 24 h, de estirpes de *Staphylococcus* e *Streptococcus* e culturas em Meio líquido PR II com carne picada e hidratos de carbono, com 18 a 24 h, para os restantes microrganismos.
 - b. Incube os tubos com as tampas desapertadas, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, numa atmosfera aeróbia (estirpes de *Staphylococcus* e *Streptococcus*) e numa atmosfera anaeróbia suplementada com dióxido de carbono, tal como fornecido no Sistema Anaeróbio **BD GasPak EZ** (microrganismos anaeróbios obrigatórios).
3. Examine os tubos após 7 dias, verificando se há crescimento.
4. Resultados esperados
**Peptostreptococcus anaerobius*..... Crescimento
ATCC 27337
Bacteroides fragilis..... Crescimento
ATCC 25285
**Clostridium novyi* A..... Crescimento
ATCC 7659
**Staphylococcus aureus* Crescimento
ATCC 25923
Streptococcus pneumoniae..... Crescimento
ATCC 6305
*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos, conforme descrito na secção "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos, para assegurar que eventuais defeitos físicos não irão interferir com a utilização.
3. Incube os tubos representativos não inoculados entre 20 a 25°C e 30 a 35°C, e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Meio líquido de Schaedler é utilizado para cultura de microrganismos aeróbios e anaeróbios exigentes.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

Schaedler et al.¹ desenvolveram várias formulações de meios para crescimento de microrganismos anaeróbios exigentes, tais como os lactobacilos, estreptococos, clostrídios e *Bacteroides*. Mata e colegas² modificaram o meio de Schaedler através do ajuste do conteúdo em peptona, do aumento da concentração de cloreto de sódio, da redução da quantidade de dextrose e da diminuição do extracto de leveduras.³ O Meio líquido de Schaedler possui a mesma fórmula do Ágar de Schaedler, exceptuando o facto de não ter ágar.

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

Este meio é altamente nutritivo devido ao seu conteúdo em peptonas, dextrose e extracto de leveduras. A hemina fornece o factor X requerido por vários microrganismos exigentes.

A incorporação de vitamina K₁ como aditivo permite a cultura de *Prevotella melaninogenica* e é estimulante para outras espécies de *Bacteroides* e para bactérias Gram-positivas não formadoras de esporos.^{4,5} O tipo de microrganismo isolado neste meio líquido depende do ambiente de incubação (aeróbio, aeróbio suplementado com dióxido de carbono ou condições anaeróbias).

VII REAGENTES

Schaedler Broth with Vitamin K₁

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Digerido pancreático de caseína	8,2	g
Digerido péptico de tecidos animais	2,5	g
Digerido de soja por papaína	1,0	g
Dextrose	5,8	g
Extracto de leveduras	5,0	g
Cloreto de sódio	1,7	g
Fosfato dipotássico	0,8	g
L-cistina	0,4	g
Hemina	0,01	g
Vitamina K ₁	0,01	g
TRIS (hidroximetil) aminometano	3,0	g

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

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos com tampas apertadas devem ser abertos com cuidado, para evitar lesões devido a quebra do vidro.

Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros líquidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"⁶⁻⁹ e as orientações da instituição. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilize em autoclave os tubos preparados, recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos entre 2 e 8°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os tubos com meio que forem armazenados conforme indicado no rótulo até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{10,11} As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

Schaedler Broth with Vitamin K₁

Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

Inocule a amostra directamente no meio líquido.

A redução do meio líquido para incubação anaeróbia deve ser efectuada antes da inoculação, colocando os tubos com as tampas desapertadas em condições anaeróbias (Sistema Anaeróbio **BD GasPak EZ** ou equivalente) durante 18 a 24 h antes da utilização. Em alternativa, a redução do meio líquido pode ser efectuada imediatamente antes da utilização, fervendo* os tubos com as

tampas desapertadas e arrefecendo-os à temperatura ambiente com as tampas apertadas, antes da inoculação.

Incube os tubos e/ou os frascos a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ em atmosfera apropriada (aeróbia, anaeróbia ou suplementada com dióxido de carbono), durante um período máximo de 7 dias.

***NOTA:** Não se recomenda a utilização do forno de microondas.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação europeus e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as normas do CLSI e os regulamentos da CLIA que dizem respeito a este assunto, para obter orientações sobre práticas de controlo de qualidade apropriadas.

X RESULTADOS

O crescimento nos tubos é indicado pela presença de turvação comparada com um controlo não inoculado.

Se houver crescimento, as culturas devem ser examinadas através de coloração Gram e deve ser efectuada uma repicagem em meios apropriados (por ex., placa de Ágar de TSA II e/ou Ágar de chocolate II, Ágar LEMB ou placa de Ágar MacConkey II, etc.). Em caso de suspeita de anaeróbios obrigatórios, as repicagens devem ser incubadas em ambiente anaeróbio (Sistema Anaeróbio BD GasPak EZ).

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Para a identificação, os microrganismos devem ser uma cultura pura. Para uma identificação final, devem ser efectuados testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.¹⁰⁻¹²

Os meios de cultura muitas vezes contêm microrganismos mortos derivados de constituintes do meio, que poderão ser visíveis em esfregaços dos meios de cultura. Outras fontes de microrganismos mortos visíveis após a coloração Gram incluem os reagentes de coloração, o óleo de imersão, as lâminas de vidro e as amostras utilizadas para inoculação. Se houver dúvidas sobre a validade da coloração Gram, a cultura deverá ser novamente incubada durante uma a duas horas e o teste deverá ser repetido antes de ser apresentado um relatório.

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

De entre nove meios líquidos testados para crescimento de bactérias anaeróbias obrigatórias, Stalons et al.¹³ constataram que o Meio líquido de Schaedler foi o meio mais eficaz, quando incubado numa atmosfera anaeróbia.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat.	Descrição
-------------	-----------

221541	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , emb. com 10 tubos K
--------	--

221542	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , caixa com 100 tubos K
--------	--

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Schaedler, R.W., R. Dubos, and R. Costello. 1965. The development of the bacterial flora in gastrointestinal tract of mice. *J. Exp. Med.* 122:59-66.
2. Mata, L.J., C. Carrillo, and E. Villatoro. 1969. Fecal microflora in healthy persons in a preindustrial region. *Appl. Microbiol.* 17:596-602.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. *J. Bacteriol.* 80:164-170.
5. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 365-375. In E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
7. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* 17:53-80.
8. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

9. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
10. 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.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. 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.
13. Stalons, D.R., C. Thornsberry, and V.R. Dowell, Jr. 1974. Effect of culture medium and carbon dioxide concentration on growth of anaerobic bacteria commonly encountered in clinical specimens. Appl. Microbiol. 27:1098-1164.

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