



PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE (Opcional)

I INTRODUÇÃO

O GN (Gram-negativo) Broth é um meio enriquecido selectivo para cultura de microrganismos entéricos Gram-negativos.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Utilizando ansas calibradas de 0,01 mL, estéreis e descartáveis, inocule os tubos com diluições de 10^{-1} de culturas em **Trypticase** Soy Broth com 18 a 24 h.
 - b. Incube os tubos com as tampas desapertadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, numa atmosfera aeróbia.
2. Após 18 a 24 h de incubação, proceda à repicagem de todos os tubos para placas de Ágar MacConkey II. Incube as placas em atmosfera aeróbia a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18 a 24 h e observe o crescimento.

3. Resultados esperados

Microrganismos de controlo do CLSI (Estirpes ATCC)

* <i>Salmonella enterica</i> subespécie <i>enterica</i> serótipo Typhimurium (14028)	Agar MacConkey II Crescimento em meio de repicagem às 24 h.
* <i>Shigella sonnei</i> (9290)	Agar MacConkey II Crescimento em meio de repicagem às 24 h.
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Agar MacConkey II Crescimento em meio de repicagem às 24 h.

*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 GN Broth (Meio líquido para Gram-negativos) é utilizado para o enriquecimento selectivo de *Salmonella* e *Shigella*.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

O GN (Gram Negative) Broth foi desenvolvido por Hajna como um meio enriquecido para isolamento de *Salmonella* e *Shigella* a partir de amostras clínicas.^{1,2} Croft e Miller isolaram um maior número de estirpes de *Shigella* com este meio do que por sementeira directa em placa, fazendo riscas.³ Taylor e Schelhart refeririam que o GN Broth optimizou o isolamento de bactérias patogénicas entéricas, produzindo um aumento de 53% para *Shigella* e de 36% para *Salmonella*, quando comparado com a sementeira directa.⁴

Actualmente, a utilização do GN Broth é recomendada para o exame microbiológico de alimentos.⁵

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

Os digeridos enzimáticos de caseína e tecidos animais fornecem os aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas para sustentar o crescimento bacteriano. O manitol e a dextrose são fontes de energia. O manitol é fornecido numa concentração superior à dextrose para optimizar o crescimento das espécies fermentadoras de manitol, tais como *Salmonella* e *Shigella*, e limitar o crescimento de *Proteus* e de outras bactérias fermentadoras de dextrose. Os tampões de fosfato

são incorporados para manter o pH do meio O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico. O citrato de sódio e o desoxicolato de sódio são adicionados para inibir bactérias Gram-positivas e algumas Gram-negativas.

VII REAGENTES

GN Broth

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Digerido pancreático de caseína	10,0	g
Digerido péptico de tecidos animais	10,0	g
Dextrose	1,0	g
D-manitol	2,0	g
Citrato de sódio	5,0	g
Desoxicolato de sódio	0,5	g
Fosfato dipotássico	4,0	g
Fosfato monopotássico	1,5	g
Cloreto de sódio	5,0	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 fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"⁶⁻⁹ e as linhas de orientação 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 em local escuro 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 tubos 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

GN Broth

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 o meio líquido o mais depressa possível depois de as amostras chegarem ao laboratório. As amostras em zaragatoas podem ser introduzidas directamente no meio líquido. Para as amostras de fezes, utilize 1 g de fezes ou 1 mL de fezes líquidas por tubo. Consulte as referências bibliográficas apropriadas para obter informações sobre o processamento e inoculação de outras amostras clínicas ou amostras de alimentos.^{5,10-12}

Incube os tubos com as tampas desapertadas a 35°C e efectue a repicagem para meios selectivos e diferenciais após 6 a 8 h de incubação e, novamente, após 18 a 24 h de incubação.¹³

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Cada lote de meio foi testado com microrganismos de controlo de qualidade adequados e estes testes cumprem as especificações do produto e as normas CLSI, quando aplicáveis. Como é norma, os testes de CQ devem ser realizados de acordo com os regulamentos locais, distritais, federais ou nacionais, os requisitos de acreditação e/ou os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório.

X RESULTADOS

O crescimento em meios líquidos é indicado pela turvação comparada com um controlo não inoculado. Proceda à repicagem para meios selectivos e diferenciais apropriados, para isolar os agentes patogénicos para identificação.

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Os meios líquidos enriquecidos não devem ser utilizados como o único meio de isolamento. Devem ser utilizados em conjunto com meios em placa selectivos e não selectivos, para aumentar a probabilidade de isolamento de agentes patogénicos, especialmente quando estes possam existir em número reduzido. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.^{5,10-12}

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Num estudo realizado por Taylor e Schelhart, foi efectuada uma comparação de três meios líquidos enriquecidos (GN, Selenite e meio de Silliker) com três meios em placa (EMB, SS e XLD), para encontrar uma combinação de meios que pudesse otimizar a detecção de espécies de *Shigella*.¹⁴ Neste estudo, foi testado um total de 1405 amostras de fezes, com uma distribuição de 158 isolados de salmonelas e 49 isolados de *Shigella*. Os meios líquidos enriquecidos apresentaram um isolamento de *Salmonella* e *Shigella* duas vezes superior, quando comparados com os meios em placa. Todos os meios líquidos tiveram um desempenho igualmente bom para a detecção de salmonelas, embora os meios GN e de Silliker tenham detectado duas vezes mais isolados de *Shigella* do que o meio líquido Selenite.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat. Descrição

221729 **BD BBL GN Broth**, 8 mL, emb. com 10 tubos K

221730 **BD BBL GN Broth**, 8 mL, caixa com 100 tubos K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Hajna, A.A. 1955. A new specimen preservative for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. 13:59-62.
2. Hajna, A.A. 1955. A new enrichment broth medium for gram-negative organisms of the intestinal group. Public Health Lab. 13:83-89.
3. Croft, C.C., and M.J. Miller. 1956. Isolation of *Shigella* from rectal swabs with Hajna "GN" broth. Am. J. Clin. Pathol. 26:411-417.
4. Taylor, W.I., and D. Schelhart. 1967. Isolation of shigellae. IV. Comparison of plating media with stools. Am. J. Clin. Pathol. 48:356-362.
5. Downes, F.P. and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, 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. Tenover (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. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
13. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
14. Taylor, W.I. and D. Schelhart. 1968. Isolation of Shigellae. V. Comparison of enrichment broths with stools. Appl. Microbiol. 16:1383-1386.

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