



BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood é utilizado no isolamento e crescimento de espécies bacterianas exigentes e não exigentes, incluindo a *Brucella*, provenientes de amostras clínicas.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

A brucelose é uma doença zoonótica com um reservatório doméstico-animal. A transmissão através do leite, de produtos lácteos, da carne e por contacto directo com animais infectados é a via de exposição normal.¹⁻³ O ágar de *Brucella* foi desenvolvido para a cultura de espécies de *Brucella* de amostras de diagnóstico, tais como sangue, e de alimentos e outros materiais potencialmente contaminados. O ágar de *Brucella* é preparado de acordo com a fórmula APHA para o meio líquido Albimi, utilizado para o isolamento das espécies de *Brucella*.⁴⁻⁷ O **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** é especialmente útil na cultura de todos os microrganismos mais exigentes aeróbios, microaerófilos, e anaeróbios incluindo estreptococos, pneumococos, *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Helicobacter pylori*.^{1,6-10}

Este meio suporta o crescimento de microrganismos exigentes devido ao seu teor de peptonas, dextrose, extracto de leveduras e sangue. As peptonas fornecem nitrogénio orgânico. O extracto de leveduras é uma fonte potente de vitaminas B. A glucose é utilizada como uma fonte de energia. O sangue de cavalo fornece os factores X e V que constituem requisitos de crescimento para determinados organismos, por exemplo a *Haemophilus influenzae*.

Convém referir que as reacções beta-hemolíticas dependem do tipo de sangue acrescentado, por exemplo, os enterococos, que só muito raramente fazem a hemólise do sangue de ovino, irão produzir uma beta-hemólise bem visível com o sangue de cavalo. O *Staphylococcus aureus*, que é normalmente beta-hemolítico no sangue de ovelha, irá ser frequentemente não-hemolítico no sangue de cavalo. Os estreptococos beta-hemolíticos e o *Haemophilus haemolyticus* podem ser diferenciados realizando-se uma coloração Gram num esfregaço preparado a partir da colónia.

REAGENTES

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

Fórmula* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de caseína	10,0 g
Hidrolisado péptico de tecido animal	10,0
Glucose	1,0
Extracto de leveduras	2,0
Cloreto de sódio	5,0
Bissulfito de sódio	0,1
Ágar	15,0
Sangue de cavalo, desfibrinado	5%

pH 7,0 ± 0,2

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

PRECAUÇÕES

IVD . Apenas para uso profissional.

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

Os procedimentos laboratoriais que envolvem a *Brucella* exigem equipamento e técnicas especiais para minimizar os riscos biológicos.¹⁻⁹ O Nível 3 de Biossegurança é necessário para o manuseamento de amostras e culturas.

ARMAZENAMENTO 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 ao 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**). Incubar as placas inoculadas a 35 ± 2°C numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono. Examinar as placas após 18 a 24 h para registar o grau de crescimento, o tamanho das colónias e as reacções hemolíticas.

Estirpes	Resultados de crescimento
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Crescimento bom a excelente; beta-hemólise
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crescimento bom a excelente; alfa-hemólise
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescimento bom a excelente; pode ser ou não beta-hemolítico
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	Crescimento bom a excelente; colónias transparentes de pequena a média dimensão, sem hemólise
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Crescimento bom a excelente, colónias grandes, brilhantes e cinzentas
Não inoculadas	Vermelho (cor de sangue)

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlado.

Materiais não fornecidos

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

Tipos de amostra

O **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** pode ser utilizado para todos os tipos de amostras caso se suspeite que os organismos exigentes e de crescimento lento estejam envolvidos numa infecção. As amostras ideais para o diagnóstico da brucelose incluem sangue e medula óssea. Para a colheita e transporte desse tipo de amostras, consultar a bibliografia.^{1,8,9} As amostras de pacientes com suspeita de brucelose devem estar etiquetadas de forma adequada para que a exposição do laboratório a este agente possa ser minimizada. Este meio não deve ser utilizado como meio de isolamento primário universal (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**).

Procedimento do teste

Espalhar a amostra para cultura imediatamente após esta ser recebida no laboratório. A placa para cultura é usada principalmente para isolar culturas puras das amostras que contêm flora mista.

Em alternativa, se o material estiver a ser cultivado directamente de uma zaragatoa, fazer rolar a zaragatoa sobre uma pequena área da superfície, na extremidade; em seguida, espalhar a partir desta área inoculada.

Dado que muitos agentes patogénicos necessitam de dióxido de carbono no isolamento primário, as placas devem ser incubadas numa atmosfera que contenha aproximadamente 5% de CO₂.

Incubar as placas a uma temperatura de 35 ± 2°C durante 18 a 24 h numa atmosfera aeróbia suplementada com dióxido de carbono. Para o isolamento da *Brucella*, pode ser necessária uma incubação entre 35 e 37°C durante 3 a 7 dias ou mais. Consultar os textos apropriados.^{1,8}

Resultados

Após a incubação, a maioria das placas apresentará uma área de crescimento confluenta. Dado que o esfregaço é, na realidade, uma técnica de diluição, um número decrescente de microrganismos é depositado nas áreas de cultura. Consequentemente, uma ou mais destas áreas devem exibir colónias isoladas dos organismos contidos na amostra. Mais, o crescimento de cada organismo pode ser avaliado semi-quantitativamente, com base no crescimento registado em cada uma das áreas espalhadas. Para o isolamento e identificação da *Brucella*, consultar a bibliografia.^{1,2,8}

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** é uma formulação padrão utilizada no isolamento de bactérias exigentes, de estreptococos, pneumococos, da *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis* e *Haemophilus influenzae*.^{1,2,6-8} Além disso, é recomendado como meio de isolamento não-selectivo primário da *Helicobacter pylori*.¹⁰ Uma vez que é não-selectivo, irão crescer no meio diversos microrganismos exigentes e não-exigentes. Para o isolamento de microrganismos específicos em amostras altamente contaminadas devem, igualmente, ser utilizados os meios selectivos apropriados. O meio também pode ser utilizado como meio de subcultura para culturas de sangue, por exemplo, nos casos de suspeita de brucelose.^{1,3,9} Este meio não é geralmente utilizado como meio universal de isolamento primário. As formulações com base no Columbia ou Trypticase Soy Agar suplementados com sangue, são geralmente preferidos para este fim.^{2,6,8} Apesar de este meio também poder ser utilizado para anaeróbios estritos, são preferidos para este fim os meios enriquecidos, como o **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**.⁶

São necessários outros procedimentos de diferenciação e identificação para identificar os organismos isolados neste meio.^{1,8}

BIBLIOGRAFIA

1. Chu, M.C., and R.S. Weyant. 2003. *Francisella and Brucella*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Tenover. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
3. Yagupsky, P. 1999. Detection of brucellae in blood cultures. J. Clin. Microbiol. 37: 3437-3442.
4. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (ed.). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Hausler, W. J. (ed.). 1976. Standard methods for the examination of dairy products, 14th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, vol. 1, p.110-114. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
8. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Seifert, H., et al. 1997. Sepsis – Blutkulturdiagnostik. In: MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 3. G. Fischer Verlag. Stuttgart, Germany.

10. Versalovic, J., and J.G. Fox. 2003. *Helicobacter*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

No. de cat. 255027 Meios em placas prontos a usar, 20 placas

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter informações adicionais, contacte o representante local da BD.



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 BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

© 2013 BD