



BD CDC Anaerobe Agar + 5% Sheep Blood

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood é um meio não selectivo utilizado para o isolamento e cultura de bactérias estritamente anaeróbias exigentes provenientes de amostras clínicas.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

O CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood foi formulado por Dowell et al. dos Centres for Disease Control and Prevention como meio enriquecido, não selectivo, utilizado para o isolamento e cultura de uma grande variedade de microorganismos estritamente anaeróbios, particularmente os que se encontram em material clínico.¹⁻⁴ O meio contém ágar de soja **Trypticase** suplementado com ágar adicional como base nutricional. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico. O sangue de ovino, a hemina, a cistina e a vitamina K1 fornecem os factores de crescimento necessários a determinados anaeróbios obrigatórios.^{1,5-7} Demonstrou-se neste meio um melhor crescimento de *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium haemolyticum*, bem como de determinadas estirpes de *Actinomyces israelii* e *Bacteroides thetaiotaomicron*.² Além disso, neste meio foi referida uma variação colonial menos lisa e mais irregular de *Bacteroides fragilis* do que no ágar de sangue de Schaedler.⁵

REAGENTES

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

Fórmula* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de caseína	15,0 g
Hidrolisado papaínico de farinha de soja	5,0
Cloreto de sódio	5,0
Ágar	20,0
Extracto de leveduras	5,0
Hemina	0,005
Vitamina K1	0,01
L-cistina	0,4
Sangue de ovino, desfibrinado	5%

pH 7,5 ± 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.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

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 durante 48 a 72 h numa atmosfera anaeróbia (por exemplo, o sistema anaeróbio **BD GasPak**).

Estirpes	Resultados de crescimento
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crescimento bom a excelente
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crescimento bom a excelente
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Crescimento bom a excelente
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crescimento bom a excelente
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Crescimento razoável a bom
Não inoculadas	Vermelho a vermelho escuro (cor de sangue)

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood (placas **Stacker** de 90 mm).

Microbiologicamente controlado.

Materiais não fornecidos

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

Tipos de amostra

Trata-se de um meio não selectivo para o isolamento e cultura de anaeróbios estritos provenientes de todo o tipo de amostras clínicas (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**). Cumprir as técnicas aprovadas para a selecção, colheita e transporte de amostras anaeróbias.⁸⁻¹¹ Têm de utilizar-se meios de transporte adequados como, por exemplo, **BD Port-A-Cul**.

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 provenientes de 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, para obter o isolamento.

Para isolamento de bactérias estritamente anaeróbias, recomenda-se a utilização de, pelo menos, dois meios para todas as amostras. Uma placa, **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, é incubada em condições anaeróbias após inoculação. Uma segunda placa, por exemplo **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, deve ser incubada em condições aeróbias com dióxido de carbono entre 5 e 10% para isolamento de elementos patogénicos aeróbios que possam estar presentes. Além disso, também deve inocular-se um meio anaeróbio selectivo para anaeróbios estritos gram-negativos como, por exemplo, o **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood**. Uma forma fácil e eficiente de obter condições anaeróbias adequadas é através da utilização dos sistemas anaeróbios **BD GasPak**.

Independentemente do sistema anaeróbio utilizado, é importante incluir um indicador da anaerobiose como, por exemplo, o indicador anaeróbio descartável **GasPak**. Para mais pormenores sobre o processamento das amostras, consultar a bibliografia.^{8-10,12,13}

Incubar placas num ambiente apropriado a uma temperatura entre 35 e 37°C durante, pelo menos, 48 h e por um período máximo de 7 dias antes de as considerar negativas.

Resultados

Após a incubação, a maioria das placas apresentará uma área de crescimento confluyente. 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.

No **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, desenvolver-se-ão todos os anaeróbios estritos e facultativos. O crescimento neste meio anaeróbio é comparado ao que se verifica numa placa de **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** incubada em condições aeróbias, que contém apenas os anaeróbios facultativos. Por último, o crescimento no **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** é comparado ao crescimento nos outros dois meios. Se estiverem presentes culturas mistas de anaeróbios estritos e facultativos, devem realizar-se repicagens apropriadas em meios não selectivos, incubadas em condições aeróbias e anaeróbias, provenientes de meios anaeróbios, de modo a confirmar que o isolado é um anaeróbio estrito.

Para outros procedimentos de diferenciação e identificação, consultar os textos apropriados.^{8-10,14}

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

No **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, que é um dos meios não selectivos padrão para o isolamento de anaeróbios estritos, desenvolver-se-ão *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, bastonetes estritamente anaeróbios e não formadores de esporas (por exemplo, o género anterior *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* e muitos outros.^{4,9,10,14-16}

Convém referir que as taxas de crescimento dos anaeróbios estritos varia consideravelmente: embora os *Bacteroides fragilis* se desenvolvam bem após 24 h, o *Mobiluncus* ou as estirpes de *Porphyromonas* requerem 4 a 5 dias, e o *Actinomyces* pode precisar de 1 a 3 semanas ou mais para produzir colónias bem visíveis. Se as culturas estiverem negativas após 2 ou 3 dias de incubação, voltar a incubar em condições anaeróbias durante outros 2 a 3 dias. Se houver suspeita de *Actinomyces*, devem inocular-se culturas especiais que são inspeccionadas após uma, duas ou mesmo três semanas de incubação.

Este meio não é especialmente selectivo para anaeróbios estritos. Quando incubado em condições anaeróbias, também se desenvolverão organismos facultativos neste meio. Por isso, no caso de se obterem culturas mistas, é importante comparar o resultado da cultura anaeróbia com o de uma placa incubada em condições aeróbias.

O **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** não contém glucose ou outros açúcares. Por isso, os organismos fortemente sacarolíticos como, por exemplo, os lactobacilos e determinados clostrídios sacarolíticos, desenvolver-se-ão bastante lentamente neste meio. O **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** é o meio preferido para o isolamento não selectivo destes organismos.

O número e tipo de espécies bacterianas que surgem como agentes infecciosos é muito grande. Assim, antes do meio ser usado rotineiramente para microrganismos raramente isolados ou recentemente descobertos, a sua adequação deve ser testada primeiro pelo utilizador, ao cultivar culturas puras do organismo em questão.

BIBLIOGRAFIA

1. Dowell, V.R., Jr., G.L. Lombard, F.S. Thompson, and A.Y. Armfield. 1977. Media for isolation, characterization, and identification of obligately anaerobic bacteria. CDC laboratory manual. Center for Disease Control, Atlanta.
2. Dowell, V.R., Jr., and T.M. Hawkins. 1987. Laboratory methods in anaerobic bacteriology. CDC laboratory manual. HHS Publication No. (CDC) 87-8272. Centers for Disease Control, Atlanta.
3. Rodloff, A.C., P.C. Appelbaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology. Coordinating ed., A.C. Rodloff. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

5. Starr, S.E., G.E. Killgore, and V.R. Dowell, Jr. 1971. Comparison of Schaedler agar and Trypticase soy- yeast extract agar for the cultivation of anaerobic bacteria. *Appl. Microbiol.* 22:655-658.
6. 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.
7. Wilkins, T.D., S.L. Chalgren, F. Jimenez-Ulate, C.R. Drake, Jr., and J.L. Johnson. 1976. Inhibition of *Bacteroides fragilis* on blood agar plates and reversal of inhibition by added hemin. *J. Clin. Microbiol.* 3:359-363.
8. Holdeman, L.V., E.P. Cato, and W.E.C. Moore (ed.). 1977. *Anaerobe laboratory manual*, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
9. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. *Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology*. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
10. Summanen, P., E.J. Baron, D.M. Citron, C.A. Strong, H.M. Wexler, and S.M. Finegold. 1993. *Wadsworth anaerobic bacteriology manual*, 5th ed. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
11. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1995. Specimen Collection, transport, and storage. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria. *In: A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology*, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Forbes, B.A. and P.A. Granato. 1995. Processing specimens for bacteria. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
15. Thomson Jr., 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.
16. 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*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

No. de cat. 256506 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, Trypticase, Stacker, Port-A-Cul and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company

© 2013 BD