



## BD TCBS Agar

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

**BD TCBS Agar** é um meio diferencial selectivo para o isolamento de *Vibrio cholerae* e outras espécies *Vibrio* provenientes de amostras clínicas.

### PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

Os vibrões são habitantes naturais da água salobra e salgada em todo o mundo.<sup>1,2</sup> As doenças intestinais nos humanos têm sido associadas ao consumo de água, moluscos ou outro tipo de mariscos contaminados. A *Vibrio cholerae* é o agente etiológico de uma diarreia secretória (cólera), que se desenvolve com a ingestão de água potável e alimentos contaminados e por via fecal-oral.<sup>2</sup> Existem outras espécies do género *Vibrio* como, por exemplo, a *V. parahaemolyticus* e *V. fluvialis* que são identificadas como a causa de gastroenterite aguda. Além disso, muitas espécies do género *Vibrio*, como é o caso de *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, e *V. damsela*, estão associadas a infecções extra-intestinais como, por exemplo, infecções de feridas, septicemia, meningite, entre outras.<sup>1-3</sup> Foi demonstrado que as infecções de feridas com *Vibrio* ocorrem especialmente em doentes que estiverem em contacto com água salgada e salobra.<sup>2,3</sup>

O **BD TCBS Agar**, preparado de acordo com a fórmula de Kobayashi *et al.*, consiste numa modificação do meio selectivo de Nakanishi.<sup>4,5</sup> Todas as *Vibrio* spp. que sejam patogénicas no homem, à excepção da *V. hollisae*, irão desenvolver-se neste meio. Este meio é recomendado para o isolamento de *Vibrio* spp. nas amostras de fezes<sup>1,2,6</sup> e é mencionado nos métodos normalizados para a realização de testes de alimentos.<sup>7,8</sup> Tratando-se de um meio altamente selectivo, cumpre os requisitos da *Vibrio* spp. e possibilita a competição entre os vibrões e a flora intestinal. Todos os membros deste género têm capacidade para se desenvolver em meios que contenham concentrações elevadas de sal, sendo determinadas espécies halófilas.<sup>6</sup>

No **BD TCBS Agar**, o extracto de leveduras e a peptona fornecem nitrogénio e vitaminas. O citrato de sódio, tiosulfato de sódio, bÍlis de bovino e colato são agentes selectivos que fornecem um pH alcalino para inibir organismos gram-positivos e suprimir os coliformes. O pH do meio é aumentado para potenciar o desenvolvimento de *Vibrio cholerae* uma vez que este organismo é sensÍvel a ambientes ácidos. A concentração elevada de sódio favorece o desenvolvimento de *Vibrio cholerae* que é halotolerante e de outras espécies de *Vibrio* que, na sua maioria, são halófilas. A sacarose é um hidrato de carbono fermentável e o cloreto de sódio estimula o crescimento. O tiosulfato de sódio é uma fonte de enxofre e actua em conjunto com o citrato férrico como um indicador para detectar a produção de sulfureto de hidrogénio. O azul de bromotimol e o azul de timol são indicadores de pH.

### REAGENTES

#### BD TCBS Agar

Fórmula\* por Litro de Água Purificada

Extracto de leveduras	5,0 g	Sacarose (Sucrose)	20,0 g
Hidrolisado pancreático de caseína	5,0	Cloreto de sódio	10,0
Hidrolisado péptico de tecido animal	5,0	Citrato férrico	1,0
Citrato de sódio	10,0	Azul de bromotimol	0,04
Tiosulfato de sódio	10,0	Azul de timol	0,04
BÍlis de bovino	5,0	Agar	14,0
Colato de sódio	3,0		

pH 8,6 ± 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 em atmosfera aeróbia durante 18 a 24 h, a uma temperatura entre 35 e 37°C.

Estirpes	Resultados de Crescimento
<i>V. cholerae</i> NCTC 8021 ou ATCC 9459	Crescimento razoável a excelente; colónias circundadas por zonas amarelas
<i>V. parahaemolyticus</i> ATCC 17802	Crescimento razoável a excelente; colónias verdes a verdes-azuladas; meio praticamente inalterado
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Inibição parcial a completa; colónias amarelas de pequena dimensão
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Inibição parcial a completa; colónias de pequena dimensão, translúcidas
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	Inibição parcial a completa; colónias azuis
Não inoculadas	Verde a verde-azulado

## PROCEDIMENTO

### Materiais fornecidos

**BD TCBS Agar** (placas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlado.

### Materiais não fornecidos

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

### Tipos de amostra e transporte de amostras

Este meio é utilizado para o isolamento de espécies do género *Vibrio* provenientes de amostras de fezes (especialmente se os doentes consumiram marisco) ou de amostras clínicas extra-intestinais caso se suspeite da existência de espécies *Vibrio* (consultar também

**CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**). Podem também ser utilizadas amostras como, por exemplo, zaragatoas rectais, vómitos e amostras de alimentos, em especial marisco. As zaragatoas deverão ser transportadas no meio de transporte Cary Blair uma vez que as *Vibrio* spp. são particularmente sensíveis à secagem.<sup>2</sup> Todas as amostras intestinais e amostras de alimentos deverão ser colocadas em tubos com água alcalina com peptonas para evitar a dessecação dos materiais e deverão ser imediatamente transportadas para o laboratório. Os períodos de transporte superiores a 8 h reduzirão a viabilidade. Não congelar as amostras!

### Procedimento do teste

Semear a amostra no **BD TCBS Agar** imediatamente após a sua recepção no laboratório, utilizando uma técnica de esfregaço aprovada. Os espécimes e amostras de alimentos podem

ser espalhados directamente ou após uma homogeneização cuidadosa (especialmente nos testes de amostras de marisco). Evitar a dessecação durante o manuseamento. Recomenda-se a inclusão de um meio menos selectivo como, por exemplo, o **BD DCLS Agar** que é superior ao Agar de MacConkey em termos de isolamento de espécies do tipo *Vibrio*. Todas as amostras extra-intestinais (por exemplo, amostras de feridas, etc.) devem ainda ser colocadas em placas num meio de agar de sangue não selectivo como, por exemplo, o **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (agar de Columbia com sangue de ovelha a 5%) e numa placa com **BD MacConkey II Agar** para que seja possível a detecção de outros agentes patogénicos possivelmente envolvidos na infecção. Incubar as placas em condições aeróbias, a uma temperatura entre 35 e 37°C, durante 18 a 24 h. Se se verificar um resultado negativo, incubar durante mais 24 h.

As amostras e espécimes clínicos com suspeita de apresentarem contagens baixas de *Vibrio* podem ser primeiro enriquecidos através da incubação de uma alíquota da amostra em água alcalina com peptonas a 35 ± 2°C.<sup>2,8</sup> As repicagens são realizadas no agar TCBS e agar de sangue ao fim de 8 h e novamente após 18 h de incubação.

### Resultados

No **BD TCBS Agar**, os vibrões fermentadores da sacarose (*V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. cincinnatiensis*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*) aparecem como colónias amarelas de média dimensão, lisas e opacas. A maioria dos outros vibrões com importância clínica, incluindo *V. parahaemolyticus*, não fermentam a sacarose e aparecem como colónias verdes a verdes-azuladas.<sup>2</sup> São necessários outros testes bioquímicos e/ou serológicos para uma identificação definitiva e para uma diferenciação entre as espécies fermentadoras e não fermentadoras da sacarose.<sup>1,2,7,8</sup>

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O **BD TCBS Agar** é um meio padrão utilizado para o isolamento de *Vibrio cholera* e outras espécies do género *Vibrio* proveniente de amostras de fezes de doentes que sofrem de diarreia, especialmente após a ingestão de marisco, ou caso se suspeite de um surto de cólera.<sup>1,2,6,7</sup> Este agar também pode ser utilizado para a detecção de *Vibrio* em amostras extra-intestinais. O **BD TCBS Agar** é também considerado como um meio padrão para o isolamento de *Vibrio* em alimentos.<sup>8,9</sup>

Uma vez que os requisitos nutricionais dos organismos variam, algumas estirpes poderão desenvolver-se inadequadamente neste meio. Por essa razão, devem ser também incluídos meios menos selectivos que permitam a detecção de espécies *Vibrio* e de outros agentes patogénicos intestinais (por exemplo, *Salmonella* e *Shigella*); o **BD DCLS Agar** pode ser recomendado para este efeito.

No **BD TCBS Agar**, o organismo *V. parahaemolyticus* pode assemelhar-se às espécies *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides* e *Pseudomonas*. As espécies *Proteus* fermentadoras da sacarose produzem colónias amarelas que se podem assemelhar às produzidas pela espécie *Vibrio*. Algumas estirpes de *V. cholerae* têm uma aparência verde ou incolor no **BD TCBS Agar** devido à fermentação retardada da sacarose.

Os meios TCBS são insatisfatórios em termos de testes de oxidase da *Vibrio* spp.<sup>2</sup>

É necessária a execução de testes adicionais para a identificação e confirmação completas das *Vibrio* spp. isoladas neste meio. Consultar a bibliografia.<sup>2,6-9</sup>

### BIBLIOGRAFIA

1. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. *Vibrio* and related species, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, and others, p. 429-444. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
2. Farmer III, J.J., J.M. Janda, and K. Birkhead. *Vibrio*. 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.
3. Pavia, A.T., et al. 1989. *Vibrio carchariae* infection after a shark bite. Ann. Intern. Med. 111: 85-86.

4. Kobayashi, T., S. Enomoto, R. Sakazaki, and S. Kuwahara. 1963. A new selective medium for pathogenic vibrios, TCBS (modified Nakanishi's agar). *Jpn. J. Bacteriol.* 18:387.
5. Nakanishi, Y. 1963. An isolation agar medium for cholerae and enteropathogenic halophilic vibrios. *Modern Media* 9:246.
6. Grasmick, A. 1992. Processing and Interpretation of bacterial fecal cultures. *In: Isenberg D (ed): Clinical microbiology procedures handbook, Volume 1. Aerobic bacteriology (section editor: Pezzlo M). pp. 1.10.1-1.10.21. American Society for Microbiology, Washington, DC.*
7. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. *In: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9. Urban & Fischer, Munich, Germany.*
8. Association of Official Analytical Chemists. 1995. Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
9. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.

## **EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO**

### **BD TCBS Agar**

No. de cat. 254432

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

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

© 2019 BD. BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.