



BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (Biplate)** (agar Schaedler / Shaedler KV, com 5% de sangue ovino) (Biplaca) é utilizado para o isolamento não selectivo de microrganismos anaeróbios e para o isolamento selectivo de bastonetes anaeróbios gram-negativos, especialmente as espécies *Bacteroides* e *Prevotella*, além de uma série de outros microrganismos anaeróbios gram-negativos oriundos de amostras clínicas.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

O Schaedler Agar with 5% Sheep Blood (agar de Schaedler com sangue de ovelha a 5%) é um meio altamente nutritivo, especialmente criado para o desenvolvimento de anaeróbios obrigatórios como, por exemplo, lactobacilos, estreptococos, clostrídios e *Bacteroides*.¹⁻³ Com a adição de vitamina K1 e hemina constitui a base de vários meios selectivos incluindo o Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood.

No Schaedler Agar with 5% Sheep Blood três peptonas fornecem os nutrientes. A glucose é uma fonte de energia. A solução tamponada tris é incluída para evitar uma diminuição extrema do pH durante a fermentação da glucose. O extracto de leveduras é uma fonte rica em vitaminas. A hemina e o heme provenientes do sangue de ovelha são necessários a uma variedade de anaeróbios estritos e outras substâncias que promovem o desenvolvimento. A inclusão de vitamina K é uma modificação adicional e foi acrescentada por se tratar de um requisito de crescimento para algumas estirpes de *Prevotella melaninogenica* (*Bacteroides melaninogenicus*), tendo sido referido que potencia o crescimento de algumas estirpes de *Bacteroides* e não formadores de esporas gram-positivos.^{4,5} O cloreto de sódio fornece electrólitos essenciais.

Actualmente, este é um meio que é largamente utilizado no isolamento de anaeróbios estritos por ser altamente nutritivo e não selectivo.

O Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (agar Schaedler KV com 5% de sangue ovino) contém o mesmo meio de base que o Schaedler Agar, mas com adição de 5% de sangue ovino lisado. Além disso, o meio é suplementado com kanamicina e vancomicina. A kanamicina inibe os bastonetes anaeróbios facultativamente gram-negativos e várias outras bactérias facultativas, ao passo que a vancomicina inibe as bactérias gram-positivas. A adição destes agentes antimicrobianos torna o meio selectivo para os anaeróbios estritos gram-negativos como, por exemplo, os *Bacteroides* e a *Prevotella*.^{3,5-8} A adição de sangue lisado melhora o crescimento e possibilita a diferenciação fácil dos dois meios incluídos nesta biplaca. Tenha em atenção que as reacções hemolíticas não podem ser lidas neste meio.

O meio **BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood** (Biplate) é utilizado para o isolamento primário de anaeróbios estritos e de bastonetes estritamente anaeróbios gram-negativos existentes em amostras clínicas.⁵⁻⁸

REAGENTES

BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (biplate)

Fórmula* por Litro de Água Purificada

Schaedler Agar with 5% Sheep Blood			
Hidrolisado pancreático de caseína	8,2 g	L-cistina	0,4 g
Hidrolisado péptico de tecido animal	2,5	Hemina	0,01
Hidrolisado papaínico de farinha de	1,0	Vitamina K1	0,01

soja			
Glucose	5,8	Tris (hidroximetil) aminometano	3,0
Extracto de leveduras	5,0	Agar	13,5
Cloreto de sódio	1,7	Sangue de ovelha, desfibrinado	5%
Fosfato dipotássio	0,8	pH 7,6 ± 0,2	

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

O Schaedler KV Agar (agar Schaedler KV) contém 5% de sangue ovino lisado e, como suplemento aos ingredientes indicados acima, contém 0,1 g/L de kanamicina e 0,0075 g/L de vancomicina.

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 receção 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 por um período de 48 a 72 h numa atmosfera anaeróbia (por exemplo, o sistema anaeróbio **BD GasPak**).

Estirpes	Schaedler Agar with 5% Sheep Blood	Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas-brancas, beta-hemólise	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas-brancas
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29741	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas-brancas, beta-hemólise	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas-brancas
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crescimento bom a excelente; colónias lobuladas grandes cinzentas-brancas; beta-hemólise (duas zonas)	Inibição parcial a completa
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas-brancas circundadas por zonas cinzentas escuras	Inibição parcial a completa
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crescimento bom a excelente; colónias esbranquiçadas	Inibição completa
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Crescimento razoável a bom; colónias branco-sujo a cinzento-castanhas	Inibição parcial a completa

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescimento	Inibição completa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescimento	Inibição completa
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Crescimento; proliferação	Inibição parcial a completa; proliferação inibida
Não inoculadas	Vermelho a vermelho escuro, opaco	Vermelho, transparente

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (biplacas **Stacker** de 90 mm). Microbiologicamente controlados. Para diferenciar os dois meios desta biplaca, o Schaedler KV Agar contém sangue ovino lisado que torna o meio transparente, enquanto o Schaedler Agar é opaco.

Materiais não fornecidos

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

Tipos de amostra

Esta biplaca contém dois meios utilizados para isolamento primário de microrganismos anaeróbios estritos, podendo ser utilizada para todos os tipos de amostras clínicas (**CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**). Cumprir as técnicas aprovadas para a colheita e transporte de amostras anaeróbias.⁵⁻¹² 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 das amostras que contém flora mista.

Para inocular esta biplaca com amostras a partir de zaragatoas, rodar primeiro a zaragatoa numa área pequena de Schaedler Agar with 5% Sheep Blood e, posteriormente, sobre uma área pequena de Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood. Utilizando uma ansa, semear a partir da área inoculada, começando pelo Schaedler Agar with 5% Sheep Blood e, em seguida, no Schaedler KV 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**.

Incubar as placas numa atmosfera anaeróbia, 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.

Como um meio de referência para as bactérias que se desenvolvem em condições aeróbias, a amostra deve ser espalhada sobre **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** que é incubado em condições aeróbias com dióxido de carbono entre 5 e 10%.

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.

No Schaedler Agar with 5% Sheep Blood, todos os anaeróbios estritos e facultativos desenvolver-se-ão. O crescimento neste meio 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 Schaedler KV 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.⁷⁻¹³

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O meio **BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood** (biplate) fornece dois meios padrão de isolamento, um para bactérias estritamente anaeróbias e outro para bastonetes estritamente anaeróbios gram-negativos.^{5-8,10-13}

No Schaedler Agar with 5% Sheep Blood, que é um meio 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.

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 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 1, 2 ou mesmo 3 semanas de incubação.

Este meio não é especialmente selectivo para anaeróbios estritos; também se desenvolverão organismos facultativos. 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 Schaedler Agar with 5% Sheep Blood contém uma elevada concentração de glucose, que suporta o rápido desenvolvimento de organismos sacarolíticos mas pode comprometer a viabilidade de organismos expostos aos ácidos acumulados durante o metabolismo bacteriano.⁸

No Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood, desenvolver-se-ão todas as espécies pertencentes ao grupo *Bacteroides fragilis*, as espécies *Prevotella* como, por exemplo, a *P. bivia*, a *P. disiens*, a *P. denticola*, a *P. buccae* e o grupo *Prevotella melaninogenica* bem como vários outros anaeróbios estritos gram-negativos. Consultar a bibliografia relativa a toxinomia recente.¹²

A beta-hemólise bacteriana não pode ser avalizada no Schaedler KV Agar uma vez que este meio contém sangue lisado. No entanto, a beta-hemólise não é utilizada para diagnóstico de organismos que crescem neste meio.

Poderá verificar-se ou não o desenvolvimento de *Fusobacterium* spp., consoante a sensibilidade das estirpes individuais aos antimicrobianos.⁷

A concentração de vancomicina (7,5 mg/mL) é normalmente inibitória para a espécie *Porphyromonas* e para as fusobactérias.^{7,13}

Os anaeróbios facultativos que apresentem resistência aos aminoglicosídeos podem desenvolver-se neste meio.

Embora possam ser realizados alguns testes de diagnóstico directamente no **BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood** (biplate), é necessária a realização de testes bioquímicos para uma completa identificação e, se indicado, a realização de testes imunológicos usando culturas puras.

BIBLIOGRAFIA

1. Schaedler, R.W., R. Dubos, and R. Costello. 1965. The development of the bacterial flora in the 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. 368. 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. Allen, S.D., J.A. Siders, and L.M. Marler. 1985. Isolation and examination of anaerobic bacteria, p. 413-433. In E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. 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.
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, CA, USA.
11. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Jousimies-Somer, H.R., et al. 2003. *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, and other anaerobic gram-negative bacteria. 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.
13. van Winkelhoff, A.J., and J. de Graaff. 1983. Vancomycin as a selective agent for isolation of *Bacteroides*. J. Clin. Microbiol. 18:1282-1284.

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD Schaedler Agar/Schaedler KV Agar with 5% Sheep Blood (biplate),

No. de cat. 254476 Meios em placas prontos a usar, 20 placas

No. de cat. 257589 Meios em placas prontos a usar, 120 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

All other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company.

© 2016 BD