



## BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** (Ágar de sangue para Brucella com hemina e vitamina K1) é um meio altamente nutritivo utilizado para o isolamento e cultura de anaeróbios estritos provenientes de amostras clínicas.

### PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

O **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** é uma modificação do ágar de Brucella que foi suplementado com hemina e vitamina K1 para suportar o crescimento de anaeróbios exigentes, especialmente os *Bacteroides*, *Prevotella* e *Porphyromonas* quando incubados em condições anaeróbias.<sup>1-3</sup> É utilizado para o isolamento de anaeróbios estritos provenientes de amostras clínicas. Também é utilizado para testes de sensibilidade de anaeróbios com o método E test.<sup>4-6</sup>

No **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, as peptonas e o extracto de leveduras, em conjunto com a glucose, fornecem os nutrientes. O bissulfito de sódio diminui o potencial redox até um nível adequado aos anaeróbios estritos. A hemina e a vitamina K1 demonstraram ser necessárias para o crescimento de determinados anaeróbios estritos.<sup>7</sup> O sangue de ovino fornece nutrientes adicionais e é utilizado para detectar reacções hemolíticas.

### REAGENTES

#### BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

Fórmula\* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de caseína	10,0 g
Hidrolisado péptico de tecido animal	10,0
Extracto de leveduras	2,0
Glucose	1,0
Cloreto de sódio	5,0
Bissulfito de sódio	0,1
Hemina	0,005
Vitamina K1	0,01
Ágar	15,0
Sangue de ovino, desfibrinado	5%

pH 7.2 ± 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 placas 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**) a uma temperatura entre 35 e 37°C.

Estirpes	Resultados de crescimento
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crescimento bom a excelente; colónias lobuladas grandes cinzentas-brancas; beta-hemólise (duas zonas)
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Crescimento bom a excelente; colónias cinzentas-brancas circundadas por zonas cinzentas escuras
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Crescimento bom a excelente; colónias esbranquiçadas
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Crescimento razoável a bom; colónias branco-sujo a cinzento-castanhas
Não inoculadas	Vermelho a vermelho escuro (cor de sangue)

## PROCEDIMENTO

### Materiais fornecidos

**BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** (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 Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** trata-se de um meio universal para o isolamento e cultura de anaeróbios estritos provenientes de todos os tipos de amostras (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**). Cumprir as técnicas aprovadas para a colheita e transporte de amostras anaeróbias.<sup>8-10</sup> Têm de utilizar-se meios de transporte adequados como, por exemplo, **BD Port-A-Cul**.

O **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** é igualmente utilizado para testes de sensibilidade de anaeróbios estritos, com o E test, que exige a utilização de culturas puras.<sup>4-6</sup>

### Procedimento do teste

Espalhar a amostra directamente no **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, após a sua chegada, utilizando uma técnica de esfregaço aprovada. Directamente após espalhar, colocar as placas em frascos anaeróbios fornecidos com uma atmosfera anaeróbia. É recomendada a utilização dos frascos **BD GasPak** e dos envelopes **BD GasPak H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>** em conjunto com um catalisador. Incubar 2 a 3 dias ou mais, se for necessário, a uma temperatura entre 35 a 37°C. Independentemente do sistema anaeróbio utilizado, é importante incluir um indicador da anaerobiose como, por exemplo, o indicador anaeróbio descartável **BD GasPak**. Se as amostras que contêm flora mista forem espalhadas sobre o meio, é recomendado incluir igualmente um meio selectivo como, por exemplo, o **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** e/ou o **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood**. Além disso, podem estar presentes na amostra anaeróbios facultativos. Assim, é recomendado que seja sempre incluído um meio aeróbio (por exemplo, **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) aquando a preparação das culturas primárias. Esta placa é incubada

num atmosfera aeróbia enriquecida com dióxido de carbono em conjunto com as culturas anaeróbias,<sup>8</sup> permitindo a detecção de organismos facultativos na amostra.

Para se utilizar o **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** em testes de sensibilidade anaeróbia com o E test, consultar a bibliografia ou as instruções do fabricante.<sup>4-6</sup>

### Resultados

Após a incubação, as placas são inspeccionadas para verificar se existem indícios de crescimento. As colónias que surgem neste meio devem ser tidas como anaeróbios estritos se não crescerem em placas de ágar de sangue incubado em atmosfera aeróbia. Por último, o crescimento no **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** é comparado ao crescimento nos outros 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.

É necessário realizar outros exames microscópicos e bioquímicos para a identificação dos géneros e espécies dos anaeróbios estritos. Para obter mais informações incluindo os procedimentos de identificação, consultar os textos apropriados.<sup>6,8,9,11</sup>

Para se lerem os resultados do E test obtidos neste meio, consultar a bibliografia ou as instruções do fabricante.<sup>4-6</sup>

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

No **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**, que é um dos meios padrão não – selectivos 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.<sup>6,8-11</sup>

Além disso, é utilizado para testes de sensibilidade com o método E test.<sup>4-6</sup>

### Resultados de desempenho<sup>12</sup>

O **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1** foi avaliado a nível interno com isolados clínicos e estirpes colhidas das seguintes espécies estritamente anaeróbias sendo, depois, comparadas com o **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** (=meio de referência): *Bacteroides fragilis*, *B. distasonis*, *Prevotella bivia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas levii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium perfringens*, *Mobiluncus mulieris*, *Eggerthella lenta (Eubacterium lentum)*. Os dois meios foram inoculados com 10<sup>3</sup> a 10<sup>4</sup> ufc por placa e foram incubados em atmosfera anaeróbia durante 3 dias. A quantidade de colónias no meio do teste foi igual ou superior ao resultado obtido no meio de teste de referência no que se refere a todas as estirpes testadas.

### Limitações do procedimento

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 placas de cultura dedicadas deste e de outros meios (por exemplo, **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**) 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.

### BIBLIOGRAFIA

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.

2. 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.
3. 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.
4. Citron, D.M., et al. 1991. Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. J. Clin. Microbiol. 29: 2197-2203.
5. Church, D.L., et al. 1996. Metronidazole susceptibility and the presence of hydrogenase in pathogenic bacteria.
6. Citron, D.A., and D.W. Hecht. 2003. Susceptibility test methods: anaerobic bacteria. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup>ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. 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.
8. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Germany.

## **EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO**

### **BD Brucella Blood Agar With Hemin And Vitamin K1**

No. de cat. 255509

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

E test is a registered trademark of AB Biodisk, Solna, Sweden

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD