



BD Columbia Agar With 5% Horse Blood

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood é um meio altamente nutritivo de uso geral, utilizado para o isolamento e cultivo de microorganismos não exigentes e exigentes provenientes de amostras clínicas.

PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

Em 1966, Ellner et al.¹, relataram o desenvolvimento de uma nova formulação de ágar de sangue, designada por Columbia Agar. As propriedades para suportar um crescimento superior do **Columbia Agar with 5% Horse Blood** derivam da combinação de duas peptonas com extracto de levedura como uma fonte de vitaminas de complexo B. Foi incluído amido de milho para absorver os subprodutos tóxicos contidos na amostra, funcionando como uma fonte de energia para os organismos que possuem alfa-amilases. O sangue de cavalo permite a detecção das reacções hemolíticas e fornece os factores X (heme) e V (dinucleotídeo de nicotinamida-adenina, NAD), necessários para o crescimento diversas espécies bacterianas, incluindo a *Haemophilus influenzae*, que requer os factores X e V. O ágar de sangue de Columbia contém um teor de hidratos de carbono relativamente elevado e, por essa razão, os estreptococos beta-hemolíticos poderão produzir uma reacção hemolítica esverdeada que pode ser confundida com a alfa-hemólise. No entanto, esta reacção hemolítica esverdeada dos estreptococos é observada com menor frequência no ágar de Columbia suplementado com sangue de cavalo do que no mesmo meio suplementado com sangue de ovelha.² Convém referir que as reacções beta-hemolíticas dependem do tipo de sangue adicionado, 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.

Neste meio, as colónias tendem a ser maiores e crescem de forma mais exuberante do que nos meios que contêm outras bases de sangue de ágar. O ágar de sangue de Columbia é recomendado como um meio de isolamento primário nas normas MiQ.³ Em muitos países europeus, este meio tornou-se no meio de isolamento primário mais utilizado para as amostras clínicas.

REAGENTES

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

Fórmula* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de caseína	12,0 g
Hidrolisado péptico de tecido animal	5,0
Extracto de leveduras	3,5
Extracto de bovino	3,0
Amido de milho	1,0
Cloreto de sódio	5,0
Ágar	13,5
Sangue de cavalo, desfibrinado	5%

pH 7,3 +/-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 as placas inoculadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 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, beta-hemólise
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crescimento, alfa-hemólise
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crescimento, beta-hemólise
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescimento; pode ser beta-hemolítico
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescimento
Não inoculadas	Vermelho (cor de sangue)

PROCEDIMENTO

Materiais fornecidos

BD Columbia 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

Tratando-se de um meio de isolamento universal, pode ser usado para todos os tipos de amostras bacteriológicas incubadas em atmosferas aeróbias (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, para obter o isolamento. Deve ser incluído um meio selectivo apropriado para a detecção de agentes patogénicos específicos como, por exemplo, o **BD MacConkey II Agar** para o isolamento de *Enterobacteriaceae* e de outros bastonetes Gram-negativos.

Dado que muitos agentes patogénicos necessitam de dióxido de carbono no isolamento primário, as placas **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** (ágar de Columbia com sangue de ovelha a 5%) devem ser incubadas numa atmosfera aeróbia que contenha aproximadamente 3 a 10% de CO₂. Incubar as placas a 35 ± 2°C entre 18 e 72 h. Ler os resultados, a primeira vez, ao fim de 18 a 24 h e voltar a incubar, se necessário.

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. Consultar a bibliografia apropriada, para obter informações sobre o aspecto e para outros testes de diferenciação dos organismos isolados.^{2,3} A morfologia típica das colónias dos organismos isolados com maior frequência no **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** (ágar de Columbia com sangue de ovelha a 5%) é a seguinte:

Estreptococos (não pertencentes ao grupo D)	De pequena dimensão, branco a acinzentado. Hemólise beta ou alfa
Enterococos (Grupo D)	De pequena dimensão, mas maiores do que os estreptococos do grupo A, acinzentadas. Hemólise beta
Estafilococos	De grande dimensão, brancas a cinzentas ou creme a amarelas, com ou sem hemólise
Corinebactérias	De pequena a grande dimensão, brancas a cinzentas ou amarelas, com ou sem hemólise
<i>Listeria monocytogenes</i>	De pequena a média dimensão, acinzentadas, com beta-hemólise fraca
<i>Enterobacteriaceae</i>	De média a grande dimensão, colónias cinzentas, com ou sem hemólise
<i>Candida spp.</i>	De pequena dimensão, branco

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O meio é apropriado para o isolamento e cultivo de muitos microorganismos de crescimento aeróbio, como as *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e outros bastonetes gram-negativos não-fermentadores, os estreptococos, estafilococos, corineformes, tipos de *Candida*, e muitos outros.²⁻⁴

O ágar de Columbia suplementado com sangue de cavalo proporciona uma beta-hemólise mais distinta dos estreptococos do que o ágar de Columbia suplementado com sangue de ovelha.² As propriedades hemolíticas descritas nos manuais de diagnóstico referem-se normalmente a sangue de ovelha. Nos meios que contêm sangue de cavalo, como o **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood**, estas propriedades podem ser diferentes (consultar também **PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO**).

As colónias de *Haemophilus haemolyticus* que fazem parte da flora normal da garganta, são beta-hemolíticas no ágar de sangue de cavalo e de coelho e devem ser distinguidas das colónias de estreptococos beta-hemolíticos utilizando outros critérios. O uso de sangue de ovelha foi sugerido para obviar este problema, uma vez que o sangue de ovelha é deficiente em nucleótidos de piridina e não permite o crescimento de *H. haemolyticus*.⁵

A *Neisseria gonorrhoeae* não cresce bem neste meio. Em vez disso, o ágar de Chocolate GC deve ser usado para a recuperação destas espécies.

O meio também não é apropriado para o isolamento e crescimento de *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* e outros microrganismos com requisitos nutritivos altamente específicos. 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. Embora possam ser realizados alguns testes de diagnóstico directamente neste meio, é necessária a realização de testes bioquímicos para uma completa identificação e, se indicado, a realização de testes imunológicos usando culturas puras. Consultar a bibliografia apropriada para mais informações.^{4,5}

BIBLIOGRAFIA

1. Ellner, P.D., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 502-504.
2. 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. Tenenbaum (ed.). *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, edited by Mauch, H., R. Lüttken, and S. Gatermann for the Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Volumes 3, 6, and 7. Urban & Fischer, Munich, Germany.
4. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, *Clinical microbiology procedures handbook*, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Baron, E. J, L. R. Peterson, and S. M. Tenenbaum. 1994. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 9th ed., p. 415. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.

EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

No. de cat. 256006

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 all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD