



## BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (agar de Columbia CNA com sangue de ovelha a 5%, melhorado) é um meio selectivo utilizado para o isolamento de microorganismos gram-positivos provenientes de materiais clínicos e não-clínicos.

### PRINCIPIO E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico

Ellner et al. em 1966 referiram o desenvolvimento de uma nova formulação de sangue de agar, que foi designada como agar de Columbia. Este meio, onde se verifica a existência de colónias de maior dimensão e um crescimento mais exuberante do que nas bases de agar de sangue comparáveis, é utilizado para os meios que contêm sangue e para formulações selectivas.

Ellner et al. descobriram que um meio com 10 mg de colistina e 15 mg de ácido nalidíxico por litro numa base de agar de Columbia, enriquecido com sangue de ovelha a 5%, suporta o crescimento de estafilococos, estreptococos hemolíticos e estreptococos e, ao mesmo tempo, inibe o crescimento das espécies de *Proteus*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*.<sup>1-3</sup> A resistência das bactérias aos agentes antimicrobianos tem aumentado ao longo dos anos. Isto é especialmente verdadeiro no caso de bastonetes gram-negativos que devem ser inibidos, mas frequentemente produzem crescimento, em agar Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

Para manter uma boa selectividade deste meio, é incluída uma pequena quantidade de aztreonam no **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved**. O Aztreonam consiste num monobactam com actividade apenas em bactérias Gram negativo, os organismos Gram positivo não são.<sup>4-6</sup> No **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**, a concentração de ácido nalidíxico foi reduzida para 5,5 mg/L para aumentar a recolha de cocos gram-positivo, em particular estafilococos, das amostras clínicas.

O agar de Columbia fornece um meio com uma base altamente nutritiva. A adição de agentes antimicrobianos, colistina, ácido nalidíxico e aztreonam torna o meio selectivo relativamente a microorganismos gram-positivos, em especial os estreptococos e os estafilococos. O sangue de ovelha permite a detecção de reacções hemolíticas que são particularmente importantes no diagnóstico presuntivo de estreptococos.<sup>2,3,7-9</sup>

### REAGENTES

#### BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II

Fórmula\* por Litro de Água Purificada

Hidrolisado pancreático de caseína	12,0 g	Agar	13,5 g
Hidrolisado péptico de tecido animal	5,0	Colistina	10,0 mg
Extracto de levedura	3,0	Ácido nalidíxico	5,5
Extracto de carne de vaca	3,0	Aztreonam	3,0
Amido de milho	1,0	Sangue de ovelha, desfibrinado	5%
Cloreto de sódio	5,0	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 o meio com as estirpes listadas abaixo. (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incubar a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 18 a 24 horas, numa atmosfera aeróbia enriquecida com dióxido de carbono.

Estirpes	Resultados de Crescimento
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescimento bom a excelente; pode ser beta-hemolítico.
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crescimento bom a excelente; alfa-hemólise
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Crescimento bom a excelente; beta-hemólise
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crescimento bom a excelente
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inibição completa
Não inoculadas	Vermelho (cor de sangue)

## PROCEDIMENTO

### Materiais fornecidos

**BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (placas **Stacker** de 90 mm) Microbiologicamente controlados.

### Materiais não fornecidos

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

### Tipos de amostra

Tratando-se de um meio selectivo universal para o isolamento de um grande número de bactérias gram-positivas, em especial os estreptococos e os estafilococos, em bacteriologia aeróbia, pode ser usado para todos os tipos de amostras bacteriológicas (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 misturada. 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, esfregar a partir desta área inoculada. Para que seja possível a detecção de todos os agentes patogénicos existentes na amostra, deve ainda ser espalhado num meio não selectivo apropriado como, por exemplo o agar **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (agar de Columbia com sangue de ovelha a 5%) e noutro meio selectivo como o **BD MacConkey II Agar**.<sup>7-10</sup>

Incubar **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 42 a 48 horas, numa atmosfera aeróbia enriquecida com dióxido de carbono, e ler as placas após 18 a 24 e após 42 a 48 horas.

## Resultados

A morfologia típica das colónias no **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** é a seguinte:

Estreptococos (não pertencentes ao grupo D)	De pequena dimensão, brancas a acinzentadas. Hemólise beta ou alfa.
Enterococos (Grupo D)	De pequena dimensão, mas maiores do que os estreptococos do grupo A, acinzentadas. Hemólise alfa (raramente beta)
Estafilococos	De grande dimensão, brancas a cinzentas ou creme a amarelas, com ou sem hemólise
Micrococos*	De grande dimensão, brancas a cinzentas ou amarelas a cor-de-laranja, com ou sem hemólise
<i>Candida spp.</i>	De pequena dimensão, brancas
<i>Listeria monocytogenes</i>	De pequena a média dimensão, acinzentadas, com beta-hemólise fraca
Bactérias gram-negativas	Nenhum indício de crescimento

\*Ver Limitações do Procedimento

Outras bactérias gram-positivas, não enumeradas acima, podem igualmente crescer no meio (ver também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**).

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O agar **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** é um meio melhorado para o isolamento e cultivo de muitos microrganismos gram-positivos de crescimento aeróbio como, por exemplo, os estreptococos, os estafilococos, os corineformes, a *Listeria spp.*, entre outros. O meio é comparável ao agar Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, contudo, a sua selectividade para bactérias gram-negativas é superior.

### Características de desempenho <sup>11</sup>

Em avaliações internas do desempenho, mais de 45 estirpes (isolados clínicos e estirpes de colecção) de bactérias Gram positivo pertencentes à espécie indicada no Quadro 1 foram testadas relativamente ao crescimento no **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (=CNA-II) e comparadas com o **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (=CNA). O **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (=COL) foi utilizado como um meio de cultura de referência. As placas foram incubadas numa atmosfera aeróbia rica em CO<sub>2</sub> durante 18 a 24 horas.

As estirpes *Proteus* resistentes a quinolona foram completamente inibidas no CNA-II, mas apresentaram um crescimento elevado no CNA e COL. Para além disso, vários bastonetes Gram negativo (*Klebsiella pneumoniae*, produtores de um espectro alargado de beta-lactamases, *Enterobacter cloacae* e *Pseudomonas aeruginosa*) foram testados. Todas estas estirpes não apresentaram crescimento no CNA-II, mas algum crescimento ligeiro a moderado no CNA e todas apresentaram um crescimento elevado no COL.

Foram inibidas mais bactérias Gram negativo no CNA-II do que no CNA e o isolamento de bactérias Gram positivo foi idêntico em ambos os meios selectivos ou melhor no CNA-II. Para além disso, várias estirpes de *Staphylococcus aureus* que apresentaram um crescimento reduzido no CNA foram testadas no CNA-II. Todas estas estirpes apresentaram um crescimento aceitável a excelente no CNA-II. As dimensões das colónias e zonas hemolíticas no CNA-II foram comparáveis às do COL.

Foram igualmente testados vários cocos anaeróbios gram-positivos (*Peptostreptococcus* e géneros relacionados) em agar CNA-I e comparados com CNA (incubação durante 42 a 72 horas, numa atmosfera anaeróbia). Enquanto a maior parte das estirpes de teste cresçam em ambos os meios, várias estirpes de teste produziram um crescimento mais fraco em agar CNA-I do que em CNA.

**Quadro 1:** Amostras gram-positivas testadas e recuperadas em agar **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (incubação: ambiente aeróbio com 5 a 8% de dióxido de carbono).

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus. milleri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> **	<i>Streptococcus. mitis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Streptococcus group C</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus group F</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Streptococcus group G</i>
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> **	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

\* são necessárias 48 horas de incubação para a detecção em agar **CNA-II** e em **CNA**.

\*\* Estas espécies crescem melhor quando são postas a crescer em ambiente anaeróbio; é necessária incubação anaeróbia durante 42 a 48 horas para a detecção em agar **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** e em **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**

### Limitações do Prodecimento

Neste meio, também pode ocorrer o crescimento de bactérias gram-negativas que apresentam resistência aos ingredientes selectivos.

As espécies de *Candida* e outros fungos não são inibidos neste meio.

Embora sejam bactérias gram-positivas, os formadores de esporos aeróbios como o *Bacillus* spp., podem ser inibidos no agar **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** e no agar **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**.

Algumas corinebactérias e micrococos apresentam um crescimento reduzido ou nulo no **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**.

Este meio não pode ser utilizado para o isolamento de bactérias unicamente anaeróbias. Como alternativa, deve ser utilizado o agar **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** ou o agar **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**.

O número e tipo de espécies bacterianas que surgem como agentes infecciosos é muito elevado. Assim, antes do meio ser usado rotineiramente para microorganismos raramente isolados e recentemente descobertos, a sua adequabilidade 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.<sup>7,9</sup>

A base de agar 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.

### 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. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 269-275. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
3. 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, 8<sup>th</sup> ed.* American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Wood, W., G. Harvey, E.S. Olson, and T.M. Reid. 1993. Aztreonam selective agar for Gram positive bacteria. *J. Clin. Pathol.* 46: 769-771.
5. Wiedemann, B., and B. A. Atkinson. 1986. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends. *In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine*, p. 962-1208. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
6. von Graevenitz, A. 1986. Use of antimicrobial agents as tools in epidemiology, identification, and selection of microorganisms. *In: Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine*, p. 723-738. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.

7. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Ruoff, K.L., R.A. Whaley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup>ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. 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.
10. Thomson, 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. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Data on file. 2004. Becton Dickinson GmbH, Heidelberg/Germany.

## **EMBALAGEM / APRESENTAÇÃO**

### **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**

<b>REF</b>	257303	Meios em placas prontos a usar, 20 placas
<b>REF</b>	257306	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

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. © 2011 BD