BD BBL Strips para Diferenciação das Espécies de *Haemophilus*

TAXO X and V Factor Strips
TAXO X Factor Strips
TAXO V Factor Strips

CE

8810091JAA
2010/07
Português

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA – As tiras **Taxo** Strips impregnadas com os factores X, V e X e V são utilizadas num procedimento qualitativo para isolamento e diferenciação das espécies de *Haemophilus*. A cultura destes organismos depende, parcialmente, da presença do factor X ou V ou de ambos.[1] Estas tiras constituem um método simples de determinação dos requisitos de crescimento dos organismos deste grupo.

As tiras **Taxo** X and V Factor Strips podem ser substituídas pela faixa de *Staphylococcus,* utilizada em alguns laboratórios, para isolamento do *Haemophilus* quando o meio base é ágar de soja **Trypticase** com ou sem sangue de ovelha.

RESUMO E EXPLICAÇÃO – Os requisitos da cultura ("factores") do *Haemophilus* são utilizados para determinar a espécie do género.[2]

O *Haemophilus influenzae*, que pode ser um patogénico primário ou secundário grave quando isolado em doentes com infecções respiratórias, não apresenta um bom crescimento, ou não cresce de todo, em ágar de sangue preparado com sangue de ovelha. Este organismo necessita do factor X ou de uma substância aquecida estável de hemoglobina (hemina) e do factor V ou de uma substância lábil aquecida (dinucleótido de adenina nicotinamida, NAD).[3] Estes dois componentes estão contidos nas células de sangue intactas e não se encontram disponíveis de imediato para o *Haemophilus* em meio de ágar de sangue de ovelha não aquecido, apesar de algum factor X se difundir no meio.[4] As colónias podem tornar-se discerníveis se por acaso crescerem junto de colónias de organismos "alimentadores" que produzam grandes quantidades de factor V durante o crescimento; por exemplo, estafilococos, *Neisseria* e *Pseudomonas*.[4]

Além disso, o sangue de ovelha é inibidor para o *Haemophilus* devido, em parte, a uma enzima anti-factor V (NADase) presente no sangue.[5]

As placas de ágar com sangue de coelho e de cavalo ajudam ao crescimento das espécies de *Haemophilus*. No entanto, o *H. haemolyticus* "não-patogénico" também cresce e pode ser confundido com o estreptococo β-hemolítico, apesar de uma repicagem Gram os diferenciar facilmente.[6]

Para isolamento nas culturas da garganta, pode colocar-se um disco de 10 unidades de bacitracina **Sensi-Disc** na área de maior inoculação, geralmente no ponto onde a inoculação tem início. Após a incubação, as colónias de *Haemophilus*, por exemplo, *H. influenzae*, podem estar presentes na zona em volta do disco.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO – As tiras **Taxo** X and V Factor Strips fornecem os factores X e V, permitindo o crescimento das espécies de *Haemophilus* existentes em amostras e diferenciação dos isolados em culturas puras com base nos seus requisitos do factor X e V.

Se estiver a diferenciar as espécies, o crescimento apenas na área da tira indica dependência do(s) factor(es) fornecido(s).

REAGENTES

As tiras **Taxo** X Factor Strips estão impregnadas com hemina.

As tiras **Taxo** V Factor Strips estão impregnadas com dinucleótido de adenina nicotinamida (NAD).

As tiras **Taxo** X and V Factor Strips estão impregnadas com hemina e NAD.

Advertências e Precauções:

Para diagnóstico *in vitro*.

Nas amostras clínicas podem existir microrganismos patogénicos, incluindo vírus de hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções Padrão"[7-10] e as linhas de orientação da instituição. Antes de proceder à eliminação, esterilize em autoclave os recipientes das amostras e qualquer outro material contaminado.

As instruções devem ser lidas e seguidas com cuidado.

Instruções de Armazenamento: Após a recepção, armazenar entre -20 e 8°C. Depois de aberto, armazenar entre 2 e 8°C para proteger a integridade do produto.

Deterioração do Produto: Não utilize as tiras que apresentem sinais de descoloração ou outros sinais de deterioração.

AMOSTRAS – Estas tiras podem ser utilizadas tanto com amostras clínicas como com culturas puras de organismos com suspeita de pertencerem às espécies *Haemophilus*. Consultar os textos apropriados para obter mais informações.[4,11]

PROCEDIMENTO

Material Fornecido: Taxo V, X e / ou VX Factor Strips.

Materiais Necessários Mas Não Fornecidos: Ágar de Soja **Trypticase** em placa previamente preparada, Meio Líquido de Soja **Trypticase**, ansa de inoculação, zaragatoas pinças esterilizadas, incubadora, 35ºC, com fonte de CO_2 suplementar.

Procedimento do Teste:

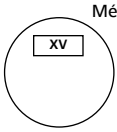
A. Isolamento da Cultura Primária

1. Espalhe a amostra numa placa para cultura, por exemplo, cultura da garganta, de uma forma convencional.
2. Com uma pinça esterilizada, coloque de forma asséptica uma tira **Taxo** XV Factor Strip numa área que apresente menos inoculação.
3. Incube durante 24 h a 35ºC numa atmosfera com um teor de dióxido de carbono entre 5 a 10%.
4. Após a incubação, será observado o crescimento "satélite" de organismos *Haemophilus* em volta da tira XV.
5. Escolha as colónias mais isoladas e transfira-as para uma segunda placa para diferenciação (consultar o procedimento B). Para a determinação dos requisitos de crescimento do factor, tem que se utilizar uma cultura pura. As culturas contaminadas ou misturadas podem produzir resultados erróneos. Se o inóculo for obtido a partir de um meio contendo qualquer um dos factores de crescimento essenciais, dilua o inóculo em 5 mL de Meio Líquido de Soja **Trypticase** esterilizado antes de inocular a placa. Este procedimento irá ajudar a evitar o co-transporte do factor X da placa primária para a placa de diferenciação.[4]

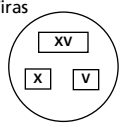
B. Diferenciação de Culturas Puras

1. Utilizando uma ansa ou uma zaragatoa, inocule uma placa de Ágar de Soja **Trypticase** em toda a sua superfície com o organismo.
2. Utilizando uma pinça esterilizada, coloque de forma asséptica as tiras do factor X, V e XV **Taxo** no ágar inoculado de forma a que fiquem com cerca de 20 mm de distância entre as tiras, como apresentado.

Métodos para Aplicação das Tiras



ISOLAMENTO



DIFERENCIAÇÃO

3. Incube a 35ºC durante 18 a 24 h numa atmosfera com um teor de dióxido de carbono entre 5 a 10%.
4. Observe as placas para verificar se há crescimento em volta das tiras.

Controlo de Qualidade pelo Utilizador: Examine as tiras como descrito em "Deterioração do Produto". Verifique o desempenho testando uma amostra representativa das tiras com culturas puras de organismos de controlo estáveis que produziram reacções conhecidas e apropriadas. Recomendam-se as seguintes estirpes de teste:

Estirpe de Teste	Crescimento ao Longo das Tirass		
	XV	V	X
H. influenzae, ATCC 10211	+	-*	-
H. parainfluenzae, ATCC 9796	+	+	-

+ indica crescimento - indica ausência de crescimento

* Pode ser observado um crescimento muito leve, difuso (possivelmente cobrindo toda a placa). Este fenómeno pode ser atribuído à detecção de quantidades de hemina no meio (Ágar de Soja **Trypticase**) ou ao co-transporte de hemina da placa de isolamento primária (chocolate). O crescimento entre as tiras X e V deve ser muito maior do que qualquer crescimento antecedente.

Os requisitos do controlo de qualidade devem ser efectuados de acordo com os regulamentos ou requisitos de acreditação locais e/ou nacionais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as orientações NCCLS e os regulamentos CLIA relativamente às práticas de controlo de qualidade apropriadas.

RESULTADOS[11] – Nas culturas primárias, observe as placas para verificar se existem colónias "satélite" em volta da tira XV.

Se estiver a diferenciar as espécies, o crescimento apenas na área da tira indica dependência do(s) factor(es) fornecido(s). Algumas reacções típicas estão apresentadas na tabela abaixo:

Espécies	Crescimento ao Longo das Tiras		
	XV	V	X
H. influenzae	+	-	-
H. aegyptius	+	-	-
H. parainfluenzae	+	+	-
H. parahaemolyticus	+	+	-
H. haemolyticus	+	-	-
*H. aphrophilus**	+	-/+	+
H. paraphrophilus	+	+	-

+ indica crescimento - indica ausência de crescimento

* O requisito do factor X pode ser observado no isolamento primário, mas perde-se, muitas vezes, na subcultura.[11] Se for necessário o factor X, o crescimento não ocorrerá em volta da tira do factor V.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO – Os testes que utilizam estas tiras são presuntivos e devem ser seguidos por testes de identificação serológica ou bioquímica, conforme for apropriado.[4,11,12]

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO – Taubitz et al. estudaram métodos para a identificação e serotipagem de estirpes capsuladas de *Haemophilus influenzae*. Foram testadas 252 estirpes de *H. influenzae* e 200 estirpes de *H. parainfluenzae*. Os requisitos do factor de crescimento foram determinados utilizando tiras do factor V, X e XV. Foi possível observar-se o crescimento opalescente, característica das estirpes capsuladas de *H. influenzae*, ao mesmo tempo que foram determinados os requisitos do factor de crescimento.[13] Noutro estudo realizado por Parker e Hoeprich, foram examinadas 255 zaragatoas nasofaríngeas e 1,317 zaragatoas da garganta com discos de factor X e V. Das zaragatoas nasofaríngeas, 62 foram positivas para *H. influenzae* e 12 foram positivas para *H. parainfluenzae*. Das 1,317 zaragatoas da garganta, 129 foram positivas para *H. influenzae* e 302 foram positivas para *H. parainfluenzae*.[1]

APRESENTAÇÃO

N.° de Cat.	**Descrição**
231109	**Taxo** V Factor Strips, Embalagem de 6 Frascos.
231108	**Taxo** V Factor Strips, 1 Frasco de 50 Tiras.
231107	**Taxo** X Factor Strips, Embalagem de 6 Frascos.
231106	**Taxo** X Factor Strips, 1 Frasco de 50 Tiras.
231105	**Taxo** XV Factor Strips, Embalagem de 6 Frascos.
231104	**Taxo** XV Factor Strips, 1 Frasco de 50 Tiras.

BIBLIOGRAFIA

1. Parker, R.H., and P.D. Hoeprich. 1962. Disk method for rapid identification of *Haemophilus* species. Am. J. Clin. Pathol. *37*:319-327.
2. Kilian, M., and E.L. Biberstein. 1984. Genus II. *Haemophilus*, p. 558-569. *In* N.R. Krieg and J.G. Holt (ed.), Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Holt, L.B. 1962. The growth-factor requirements of *Haemophilus influenzae*. J. Gen. Microbiol. *27*:317-322.
4. Howard, B.J. 1987. *Haemophilus*, p. 279-288. *In* B.J. Howard (ed.), Clinical and pathogenic microbiology. The C.V. Mosby Company, St. Louis.
5. Waterworth, P.M. 1955. The stimulation and inhibition of the growth of *Haemophilus influenzae* in media containing blood. Br. J. Exp. Pathol. *36:*186-194.
6. Krumwiede, E., and A.G. Kuttner. 1938. A growth inhibitory substance for the influenzae group of organisms in the blood of various animal species. J. Exp. Med. *67:*429-441.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
8. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. *17*:53-80.
9. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
10. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
11. Campos, J.M. 1995. *Haemophilus*, p. 556-565. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover and R.H. Yolken (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
12. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. *Haemophilus*, p. 363-394. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
13. Taubitz, I.S., and H. Brandis, 1988. A comparison between methods of identification and serotyping of encapsulated strains of *Haemophilus influenzae*. Zbl. Bakt. Hyg. A 270, 83-97.

Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare

Use by / Spotřebujte do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Pouiite do / Usar antes de / Använd före /
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned) /
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä)
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) /
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês) /
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca)
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet på månaden)

REF

Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalógové číslo / Número de catálogo

EC REP

Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselet az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaite / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisas / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik

Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperatuurlimiet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturenbereich / Όριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegränsning

LOT

Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarıe / Batch kode (Lot) / Chargenummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarıa) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti)

Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k pouıití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeda kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na pouívanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen

Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds

EC REP Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, BBL, Sensi-Disc, Taxo and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2010 BD.