

ÁGAR SANGUE/CHOCOLATE

FINALIDADE

Meios de cultura para isolamento de bactérias exigentes e não exigentes

APRESENTAÇÃO

Ágar Sangue/Chocolate - Pacote com 10 biplacas 90x15mm – Cód. PA45

COMPOSIÇÃO

ÁGAR SANGUE (g/L)	
Ágar Triptico de Soja (TSA)	40,0
Sangue de carneiro desfibrinado	62,85 mL/L
Água purificada	1000 mL
ÁGAR CHOCOLATE SUPLEMENTADO (g/L)	
Ágar Triptico de Soja (TSA)	40,0
Sangue de carneiro desfibrinado	62,85 mL/L
Suplemento VX (Newprov)	11,42 mL/L
Água purificada	1000 mL

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

REGISTRO ANVISA

10287910059

ARMAZENAMENTO

Conservar o produto sob refrigeração (2 a 8° C).

Válido por 120 dias após a fabricação.

Verificar o prazo de validade na embalagem.

Nunca utilizar produtos com validade expirada.

Este produto apresenta na sua composição elevada porcentagem de água, por isso ao sofrer variações de temperatura ele pode apresentar água de condensação em quantidades variadas, ocasionando o acúmulo de água na placa.

A água acumulada na placa por variação de temperatura não altera o desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento, contaminação, ou seja, alteração no aspecto do produto.

O uso de refrigerador frost-free não é recomendado para os meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Recomenda-se guardar as placas com o meio de cultura virado para cima, e quando ocorrer o acúmulo de água, desprezar a água de condensação e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura ambiente antes de sua utilização. Retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto a ser utilizado na rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada antes da sua utilização, em temperatura ambiente ou incubar em estufa $\pm 37^{\circ}\text{C}$. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, pois a constante troca de temperatura, pode ocasionar a desidratação do meio, expor o produto a contaminação ou gerar acúmulo excessivo de água.

TRANSPORTE

Transportar o produto em temperatura ambiente (10 a 30° C) por até 72 horas.

CUIDADOS ANTES DO USO

Por tratar-se de material estéril, manusear o produto utilizando equipamentos de proteção individual (luvas, avental e máscara) em ambiente com assepsia de preferência em cabine de segurança biológica classe II.

Não usar materiais com selo de qualidade rompido ou violado.

Verificar o prazo de validade na embalagem.

Nunca utilizar produtos ressecados ou contaminados.

Remover o produto da refrigeração até atingir a temperatura ambiente.

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS COM O PRODUTO

- Alça bacteriológica,
- Swabs para coleta das amostras.

INFORMAÇÕES TÉCNICAS

- PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

ÁGAR SANGUE: O Ágar Sangue é um meio de cultura rico, adicionado de sangue de carneiro desfibrinado estéril para cultivo e isolamento de microrganismos fastidiosos e não-fastidiosos, favorecendo a observação de reações hemolíticas precisas. É indicado, portanto, principalmente para isolamento de estreptococos hemolíticos e estafilococos, presentes em amostras dos mais variados materiais clínicos.

ÁGAR CHOCOLATE: O Ágar Chocolate Suplementado é um meio de cultura rico, adicionado de sangue de cavalo desfibrinado estéril em temperatura adequada para lise das hemácias e liberação de componentes essenciais para cultivo e isolamento de microrganismos fastidiosos. Além destes fatores naturais do sangue, é adicionado ao meio o suplemento VX com o intuito de otimizar a recuperação de bactérias exigentes e/ou estressadas. É, portanto indicado principalmente para isolamento de *neisserias spp.* e outros microrganismos fastidiosos.

- USUÁRIO PRETENDIDO

Profissionais de laboratório de pesquisa ou análise clínica que realizam estudos ou serviços em microbiologia. Profissionais do controle de qualidade em indústria alimentícia, farmacêutica e agropecuária.

- AMOSTRA

Secreções em geral, líquidos corporais estéreis, secreções respiratórias, biópsias, etc.

- TÉCNICA DE USO

Inoculação

Semear ambos os lados da biplaca com alça bacteriológica ou com o próprio swab da coleta, assegurando que todos os lados do swab entrem em contato com a superfície dos meios, para adequada transferência dos microrganismos. Em seguida estriar ambos os lados por esgotamento com alça bacteriológica estéril.

Incubação

Geralmente as placas semeadas são incubadas por 18 a 24 horas a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, ou de acordo com o recomendado para a amostra em questão.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

No Ágar Sangue observar se houve crescimento bacteriano, o tamanho, as características das colônias isoladas e as possíveis reações hemolíticas em torno destas: halo claro $\rightarrow$ beta hemólise; halo esverdeado $\rightarrow$ alfa hemólise; ausência de halo $\rightarrow$ gama hemólise.

Características coloniais dos principais microrganismos isolados em Ágar Sangue

MICRO-ORGANISMO	CARACTERÍSTICAS DA COLÔNIA
<i>Staphylococcus aureus</i>	Médias, com pigmento amarelo ou cinza caramelo. Geralmente beta hemolíticas.
Estafilococos coagulase negativa	Pequenas a médias, geralmente brancas e não hemolíticas.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Pequenas, com hemólise (beta) acentuada.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pequenas e umbilicadas, alfa hemolíticas.
<i>Enterococcus spp.</i>	Pequenas a médias, acinzentadas, alfa, gama ou beta-hemolíticas.
<i>Escherichia coli</i>	Grandes, lisas e brilhantes. Beta ou gama hemolíticas.
<i>Proteus mirabilis</i>	Médias a grandes, translúcidas, com crescimento em véu (<i>swarming</i>) e odor fétido.
<i>Klebsiella spp.</i>	Grandes, de bordas bem definidas. Aspecto mucoso (butiloso) e brilhoso.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Médias a grandes, foscas com bordas irregulares típicas. Odor adocicado, às vezes com pigmento metálico brilhante.
Corinebactérias	Puntiformes a pequenas, incolores.
Leveduras (<i>Candida spp.</i>)	Pequenas a médias, brancas com bordas lisas ou irregulares (espículas).

No Ágar Chocolate Suplementado observar o desenvolvimento de colônias pequenas, translúcidas, convexas, elevadas e de coloração branca acinzentada é sugestivo de *Neisseria spp.* As colônias de *Haemophilus spp.* apresentam-se pequenas, transparentes e achatadas. Recomenda-se sempre realizar uma coloração de Gram das colônias desenvolvidas em ágar chocolate devido à dificuldade de distinção entre diferentes espécies bacterianas, uma vez que este meio permite o crescimento de praticamente todas as espécies de bactérias facultativas, fastidiosas ou não.

INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES

Algumas situações poderão comprometer a execução dos testes e gerar interferências analíticas, como:

- Tempo longo entre a semeadura da amostra e análise. Ao utilizar colônias isoladas em um período superior a 24 horas, o metabolismo bacteriano pode ficar comprometido e a leitura de alguns parâmetros podem consequentemente ficar defasados ou até mesmo não ocorrer. Em colônias recentes (inferior ao período de 18 horas) não se encontram com o metabolismo bem definido, e algumas provas podem não ocorrer;
- Incubação em temperatura inadequada;
- Sobrecarga de inóculo ou falta de inóculo. Placas com uma carga bacteriana mais carregada podem fornecer resultados falsamente positivos e inóculos mais fracos fornecem resultados falsamente negativos;
- Interpretação equivocada de resultados;
- Técnica de assepsia inadequada;
- Tempo excessivo ou insuficiente de incubação. Tempo excessivo de incubação fornece resultados falsamente positivos e tempo insuficiente fornece resultados falsamente negativos;
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas;
- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico;
- Utilização de meios de cultura com aparência alterada;
- Não aguardar para que os materiais atinjam a temperatura ambiente no momento do uso;
- Erro na conservação do produto pode ocasionar desidratação do meio e alteração das propriedades dos componentes.

REAÇÕES ADVERSAS

Não aplicável

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO PRODUTO

-ESPECIFICIDADE

Staphylococcus aureus

Estafilococos coagulase negativa

Streptococcus pyogenes

Streptococcus pneumoniae
Enterococcus spp.
Escherichia coli
Proteus mirabilis
Klebsiella spp.
Pseudomonas aeruginosa
Corinebactérias
Leveduras (*Candida spp.*)
Haemophilus spp.
Neisseria spp.
Moraxella spp.

- LIMITE DE DETECÇÃO
100 UFC/mL

RISCOS RESIDUAIS
Não aplicável

INTERVALOS DE REFERÊNCIA
Não aplicável

REQUISITOS DE INSTALAÇÃO, TREINAMENTO OU QUALIFICAÇÕES ESPECIAIS
Não aplicável

DESCARTE DO PRODUTO E DA AMOSTRA

Descartar o produto e a amostra de acordo com o programa de gerenciamento de resíduos do laboratório.

* Para o produto sem contato com a amostra seguir o plano de gerenciamento de resíduos químicos.

* Para a amostra e produto com amostra seguir plano de gerenciamento de resíduos infectantes ou possivelmente infectantes.

* Após incubação o produto deverá ser autoclavado a 121° C por 30 minutos e descartado em lixo apropriado.

CONTROLE DE QUALIDADE

ANÁLISES ÁGAR SANGUE	RESULTADO ESPERADO
pH final a 25° C	7,3 ± 0,1
Aspecto final	Meio âmbar claro a amarelado, ligeiramente opalescente
Desempenho microbiológico <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 Inóculo ~ 100 UFC	Crescimento bom a excelente. Colônias pequenas, beta hemolíticas.
Desempenho microbiológico <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 48619 Inóculo ~ 100 UFC	Crescimento bom (em tensão de CO ₂). Colônias pequenas e umbilicadas, alfa hemolíticas.
Esterilidade	Ausência de crescimento
ANÁLISES ÁGAR CHOCOLATE SUP.	RESULTADO ESPERADO
pH final a 25° C	7,3 ± 0,2
Aspecto final	Meio sólido, marrom brilhante, homogêneo
Desempenho microbiológico <i>H. influenzae</i> ATCC 10211 Inóculo ~ 1000 UFC	Crescimento moderado a bom de colônias médias translúcidas
Esterilidade	Ausência de crescimento

GARANTIA DA QUALIDADE

Este produto é fabricado e liberado para venda após testes de controle de qualidade para cada lote, conforme normas das Boas Práticas de Fabricação e Controle de produtos para diagnóstico de uso *in vitro*.

Para eficácia do produto é necessário:

- Utilizar amostras clínicas coletadas, transportadas e armazenadas de acordo com a indicação da literatura especializada;
- Seguir rigorosamente todas as etapas descritas nesta instrução de uso.
- Utilizar acessórios e equipamentos adequados e em boa conservação.
- Transportar e armazenar o produto de acordo com as condições indicadas.
- Nunca utilizar produtos com a embalagem original danificada.
- Nunca utilizar produto com prazo de validade expirado.

Caso ocorra qualquer problema na utilização do produto relativo à qualidade intrínseca do mesmo, que tenha ocorrido por falha de fabricação comprovada, a **Newprov** resolverá a questão sem ônus ao cliente, conforme determinado na Lei 8.078/90 – Código de Defesa do Consumidor.

A Newprov disponibiliza, aos seus clientes, assessoria técnica-científica para quaisquer esclarecimentos necessários quanto a utilização deste produto que não estejam contemplados nesta instrução de uso, através de contato com o SAC – Serviço de Atendimento ao Consumidor.

Certificados de análise de cada lote estão disponíveis na empresa e podem ser encaminhados ao cliente sempre que solicitados ao SAC ou acesso pelo site www.newprov.com.br após cadastro no campo de acesso restrito.

Consulte sempre a instrução de uso através do QR code impresso no rótulo do produto para garantir a correlação adequada de versão/revisão do documento frente ao produto adquirido. Na necessidade de versão impressa

da instrução de uso solicitar sem custo adicional (inclusive de envio) ao nosso SAC pelo (41) 38881300 ou sac@newprov.com.br

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIFCO & BBL MANUAL. **Manual of Microbiological Culture Media**. Maryland: Becton, Dickinson and Company, 2003.

ISENBERG, H. D. (Ed.) **Clinical Microbiology Procedures Handbook**. 2nd Ed. Washington DC: ASM, 2004.

MANUAL OXOID. São Paulo: Oxoid Brasil Ltda., 2000.

MURRAY, P. R. et al. (Eds) **Manual of Clinical Microbiology**. 9th Ed. Washington D.C.: ASM, 2007.

NCCLS. **Quality Assurance for Commercially Prepared Microbiological Culture Media**. 2nd Ed. NCCLS Document M22-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1996.

WINN Jr., W. et al (Eds.) **Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology**. 6th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO DE USO *IN VITRO*

Fabricado e distribuído por:

Newprov Produtos para Laboratório Ltda

Rua 1º de Maio, 590/608 - Centro - CEP: 83323-020 - Pinhais - PR

CNPJ: 73.636.391/0001-09

Responsável Técnica:

Bárbara Pereira Albini – CRF/PR 19057

Indústria Brasileira

Serviço de Assessoria e Soluções de excelência em análises laboratoriais

SAC: 41 38881300 – sac@newprov.com.br