

ÁGAR BCYE BASE BCYE AGAR BASE (7728)

Uso Previsto

Ágar BCYE Base é utilizado para o isolamento de *Legionella* spp.

Sumário e Explicação do Produto

Em 1977, McDade *et al.*, identificou a *Legionella pneumophila* como o agente causador da Legionelose, uma doença multissistêmica manifestada principalmente como pneumonia.^{1,2} Em 1978 o novo meio Ágar F-G, resultou no melhoramento do crescimento de *L. pneumophila*, um organismo muito exigente.³ Freely *et al.*, modificou o Ágar F-G através da substituição do extrato de levedura como a fonte de vitamina e reposição do amido com carvão ativado, produzindo o Ágar Extrato de Levedura com Carvão (CYE, por sua sigla em inglês).⁴ Em 1980, Pasculle *et al.*, reportou que o Ágar CYE poderia ser melhorado com a adição do tampão ACES (Ácido N-2-Acetamido-2-Aminoetanosulfônico).⁵ Após um ano, Edelstein aumentou a sensibilidade do meio adicionando o sal potássio do ácido alfa-cetoglutárico.⁶

Princípios do Procedimento

O Extrato de Levedura fornece nitrogênio, carbono e vitaminas no ÁGAR BCYE. O Carvão Ativado decompõe o peróxido de hidrogênio, um produto metabólico tóxico para a *Legionella* spp. e pode coletar também dióxido de carbono e modificar a tensão de superfície. O Tampão ACES é adicionado para manter o pH apropriado para o crescimento ideal. O α -cetogluturato estimula o crescimento do organismo. O Pirofosfato Férrico fornece o ferro. Ágar é o agente solidificante. O Ágar BCYE é suplementado com L-Cistina, um amino ácido incorporado para satisfazer as especificações nutricionais da *Legionella* spp. Agentes seletivos podem ser adicionados se necessário.

Fórmula / Litro

Extrato de Levedura	10 g
Tampão ACES	10 g
Carvão, ativado	1,5 g
α -cetogluturato	1 g
Pirofosfato Férrico	0,25 g
Ágar	15 g

pH Final: 6,9 \pm 0,2 a 25°C

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para atender as especificações de desempenho.

Suplementos / 10 mL

L-Cistina (4%), estéril

Precauções

1. Somente para o uso em laboratório.
2. IRRITANTE. Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele.

Modo de Preparo

1. Suspenda 38 g do meio em 900 mL de água purificada.
2. Ajuste o pH para 6,9 com KOH 1N.
3. Adicione água para atingir o volume de 1000 mL.
4. Aqueça até ferver, agitando frequentemente para dissolver o meio.
5. Autoclave a 121°C por 15 minutos. Resfrie a 45–50°C.
6. Adicione asepticamente 10 mL da solução estéril de L-Cistina (4%).
7. Misture e adicione soluções inibidoras se necessário.
8. Dispense com agitação.

Especificações de Controle de Qualidade

Aparência Desidratado: O pó é homogêneo, fluxo livre e preto acinzentado.

Aparência Preparado: O meio preparado é opaco e preto.

Resposta Esperada de Cultivo: Resposta de cultivo no Ágar BCYE a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e examinado para crescimento e fluorescência sob luz UV de comprimento de onda longo após 66–72 horas de incubação.

Micro-organismo	Inóculo Aproximado (UFC)	Resultados Esperados	
		Crescimento	Reação
<i>Legionella bozemanii</i> ATCC® 33217	10–300	Crescimento	Branco azulado
<i>Legionella dumofii</i> ATCC® 33279	10–300	Crescimento	Branco azulado
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC® 33152	10–300	Crescimento	Verde amarelado
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	10–300	Crescimento	---
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	10–300	Crescimento	---

Os organismos listados são os mínimos que devem ser avaliados para o teste de controle de qualidade.

Procedimento do Teste

Cultive o organismo imediatamente após o recebimento. Para espécimes provenientes de swabs, estrie o swab sobre um terço da superfície do ágar. Semeie o restante da placa para obter colônias isoladas. Incube as placas inoculadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por um mínimo de 3 dias. O crescimento é normalmente visível dentro de 3–4 dias, mas pode levar até 2 semanas.

Resultados

Legionella pneumophila produz colônias pequenas a grandes, regulares, incolores a pálidas, cinza azuladas, ligeiramente mucoide que fluorescem verde amareladas sob luz UV com comprimento de onda longo. A coloração de Gram, testes bioquímicos e procedimentos sorológicos devem ser realizados para a confirmação de *L. pneumophila*.

Armazenamento

Armazene o frasco contendo o meio desidratado devidamente fechado entre $2\text{--}30^\circ\text{C}$. Uma vez aberto e fechado novamente, coloque o frasco em um ambiente de baixa umidade e na mesma temperatura de armazenamento. Proteja contra a umidade e luz mantendo o frasco firmemente fechado.

Validade

Refira-se à data de validade no frasco. O meio desidratado deve ser descartado se não fluir livremente ou se houver mudança na coloração original. A validade se aplica ao meio em sua embalagem intacta quando armazenado como indicado.

Limitações do Procedimento

1. Devido à variação nutricional, algumas cepas podem apresentar um crescimento fraco ou ausência de crescimento neste meio.
2. Testes bioquímicos e procedimentos sorológicos devem ser realizados para confirmar a presença de *L. pneumophila*.

Embalagem

Ágar BCYE	N° Código	7728A	500 g
		7728B	2 kg
		7728C	10 kg

Referências

1. **McDade, Shepard, Fraser, Tsai, Redus, Dowdle and the Laboratory Investigation Team.** 1977. N. Engl. J. Med. **297**:1197.
2. **Edelstein.** 1985. *In* Lennette, Balows, Hausler and Shadomy (eds.). Manual of clinical microbiology, 4th ed. ASM. Washington, D.C.
3. **Freely, Gorman, Weaver, Mackel and Smith.** 1978. J. Clin. Microbiol. **8**:320.
4. **Freely, Gibson, Gorman, Lansford, Rasheed, Mackel and Baine.** 1979. J. Clin. Microbiol. **10**:437.
5. **Pasculle, Freely, Gibson, Cordes, Myerowitz, Patton, Gorman, Carmack, Ezzell and Dowling.** 1980. J. Infect. Dis. **141**:727.
6. **Edelstein.** 1981. J. Clin. Microbiol. **14**:298.

Informação Técnica

Contate a Neogen do Brasil para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone 19.3935-3727.

Contate a Acumedia Manufacturers, Inc. para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone +1 (517)372-9200 ou fax +1 (517)372-2006.