



COLUMBIA BLOOD AGAR

Placas prontas a usar



Columbia Blood Agar:
Streptococcus β-hemolíticos do grupo A

1 - UTILIZAÇÃO PREVISTA

Dispositivo de diagnóstico *in vitro*. Meio não seletivo, de uso geral, para o isolamento, cultivo e determinação do padrão hemolítico de microrganismos exigentes e não exigentes, a partir de amostras clínicas e outros materiais.

2 - COMPOSIÇÃO - FÓRMULA TÍPICA *

Peptocomplex	10 g
Tryptose	10 g
Peptone	3 g
Maize starch	1 g
Sodium chloride	5 g
Agar	12 g
Defibrinated sheep blood	50 mL
Purified water	1000 mL

* A fórmula pode ser ajustada e/ou complementada para atender aos critérios de desempenho exigidos.

3 - PRINCÍPIO DO MÉTODO E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

O ágar sangue Columbia foi descrito pela primeira vez em 1966 por Ellner, Stoessel, Drakeford e Vasi¹ da Universidade de Columbia, que combinaram peptonas de carne e caseína e sangue de ovelha defibrinado num único meio. Após dois anos de testes, este meio mostrou propriedades de promoção do crescimento notavelmente melhoradas e revelou-se superior ao ágar sangue anteriormente utilizado para diferenciar organismos β e α hemolíticos.¹

O ágar sangue Columbia é um meio não seletivo, de uso geral, com sangue defibrinado de ovelha, destinado ao isolamento, cultivo e determinação do padrão hemolítico de microrganismos não exigentes e exigentes, tais como *Corynebacterium* spp., *Actinomyces* spp., *S. pneumoniae*, *Staphylococcus*, *C. jejuni* a partir de amostras clínicas^{2,3}. O ágar sangue Columbia é recomendado para a purificação de colônias e para o teste de confirmação com incubação a 25 °C em condições aeróbicas, pelos métodos ISO 10272 para o isolamento e enumeração de *Campylobacter* spp. em alimentos.⁽⁴⁾

As peptonas fornecem carbono, azoto e oligoelementos para o crescimento bacteriano, o cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico, o amido de milho é incluído para absorver subprodutos tóxicos contidos na amostra e é uma fonte de energia para o crescimento bacteriano. A presença de sangue de ovelha permite a determinação do padrão hemolítico, como uma ferramenta útil para a orientação da identificação bacteriana.

4 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Aparência do meio vermelho, opaco
pH final a 20-25 °C 7.3 ± 0.1

5 - MATERIAIS FORNECIDOS - EMBALAGEM

Produto	Tipo	REF	Embalagem
Columbia Blood Agar	Placas prontas a usar	541136	2 x 10 placas ø 90 mm embalagem primária: 2 saquinhos de celofane embalagem secundária: caixa de cartão

6 - MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Anas e zaragatoas esterilizadas, incubadora e equipamento de laboratório conforme necessário, geradores e frascos de atmosfera controlada, meios de cultura auxiliares e reagentes para a identificação das colônias.

7 - AMOSTRAS

As placas de ágar sangue Columbia podem ser inoculadas diretamente com muitas amostras clínicas (por exemplo, expectoração, nariz, garganta, feridas, urina, etc.). Consulte a literatura citada para obter informações sobre os tipos de amostras relacionadas com infecções específicas.⁵⁻⁷O ágar sangue Columbia não é adequado para inoculação direta de amostras de sangue. Sempre que possível, recolha as amostras antes da terapia antimicrobiana. Devem ser aplicadas boas práticas laboratoriais para a recolha, transporte e armazenamento das amostras clínicas; consulte as referências apropriadas para obter mais informações.⁵ Para o exame microbiológico de alimentos, consulte a norma ISO.⁴

8 - PROCEDIMENTO DE TESTE

Deixe as placas atingirem a temperatura ambiente e a superfície do meio secar.

Inocule e espalhe a amostra com uma alça sobre os quatro quadrantes da placa para obter colônias bem isoladas, garantindo que as secções 1 e 4 não se sobreponham. Alternativamente, se o material estiver a ser cultivado diretamente a partir de um esfregaço, role o esfregaço sobre uma pequena área da superfície na borda; em seguida, espalhe a partir desta área inoculada.

Incuba a 35-37 °C em condições aeróbicas com ou sem 5-10% de CO₂ e registre os resultados após 24, 48 e, se necessário, 72 horas.

O utilizador é responsável por escolher o tempo de incubação, a temperatura e a atmosfera adequados, dependendo da amostra processada, dos requisitos dos organismos a serem recuperados e dos protocolos locais aplicáveis.





9 - LEITURA E INTERPRETAÇÃO

Após a incubação, observe o crescimento bacteriano e registre as características morfológicas, cromáticas e hemolíticas específicas das colônias.

Abaixo estão resumidas as características das colônias de alguns microrganismos que podem ser isolados em placas de ágar sangue Columbia.⁸

- As colônias de estreptococos do grupo A têm normalmente cerca de 0.5-1 mm de diâmetro, são transparentes ou translúcidas e abauladas, com uma superfície lisa e uma borda inteira. Estão rodeadas por uma zona bem definida de hemólise completa, geralmente duas ou três vezes o diâmetro da colônia.
- As colônias de estreptococos do grupo B são tipicamente maiores (2-4 mm de diâmetro), rodeadas por uma zona muito menor de hemólise completa e algumas estirpes não lisam o sangue de todo.
- A aparência das colônias de estreptococos beta-hemolíticos do grupo C e do grupo G na superfície ou subsuperfície não difere suficientemente das colônias do grupo A para ter qualquer valor na identificação.
- As colônias de estreptococos do grupo D (*S. bovis*) são um pouco maiores do que outras colônias de estreptococos, são menos opacas, salientes e cinzentas a cinza-esbranquiçadas.
- As colônias pneumocócicas são redondas com bordas inteiras, mucoides e com cerca de 1 mm de diâmetro. Quando a cultura é incubada em incubadoras de CO₂, as colônias são rodeadas por uma zona bastante grande de hemólise alfa.
- As colônias de estreptococos *viridans* variam em tamanho igual ou maior do que os dos estreptococos do grupo A. As colônias são geralmente menores do que as dos pneumococos. Podem parecer mucoides ou translúcidas ou brilhantes e não translúcidas. As colônias podem estar rodeadas por uma pequena zona de hemólise alfa (destruição parcial dos glóbulos vermelhos) ou não ter nenhuma zona de hemólise.
- As colônias de estafilococos são amarelas ou brancas, com ou sem zona de beta-hemólise.
- As colônias de *Listeria monocytogenes* estão rodeadas por uma pequena zona de beta-hemólise.

Depois de as colônias terem crescido em placas de ágar sangue Columbia, o utilizador deve diferenciar os potenciais agentes patogênicos que requerem identificação e testes antimicrobianos dos contaminantes que representam membros da microbiota normal.

10 - CONTROLO DE QUALIDADE DO UTILIZADOR

Todos os lotes fabricados do produto são liberados para venda após a realização do Controle de Qualidade para verificar a conformidade com as especificações. No entanto, o usuário final pode realizar seu próprio Controle de Qualidade de acordo com os regulamentos locais aplicáveis, em conformidade com os requisitos de acreditação e a experiência do Laboratório. Abaixo estão listadas algumas cepas de teste úteis para o controle de qualidade.⁹

CEPAS DE CONTROLO	T° DE INCUBAÇÃO / T / ATM	RESULTADOS ESPERADOS
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	35-37 °C / 24H / A ou CO ₂	bom crescimento, hemólise beta
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 6305	35-37 °C / 24H / A ou CO ₂	bom crescimento, hemólise alfa
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	35-37 °C / 24H / A ou CO ₂	bom crescimento
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37 °C / 24H / A ou CO ₂	bom crescimento

A: incubação aeróbica; ATCC é uma marca registada da American Type Culture Collection

11- CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Antes da comercialização, uma amostra representativa de todos os lotes de placas prontas a usar de Columbia Blood Agar e da matéria-prima utilizada para a produção das placas preparadas (Columbia Blood Agar Base REF 401136 desidratada) é testada quanto à produtividade e ao padrão hemolítico, comparando os resultados com um lote de referência previamente aprovado.

A produtividade é testada por um teste quantitativo com 2 estirpes: *C. jejuni* ATCC 33291 e *E. coli* ATCC 43478: as placas são inoculadas com diluições decimais em solução salina de uma suspensão de colônias e incubadas a 41,5 °C ± 1 °C durante 44 ± 4 horas em atmosfera microaerofílica. As colônias são enumeradas em ambos os lotes e a taxa de produtividade (*Pr*) é calculada. Se *Pr* for ≥ 0,7, os resultados são considerados aceitáveis e em conformidade com as especificações. Além disso, as características de produtividade são testadas por técnica ecométrica semiquantitativa com as seguintes estirpes: *S. pyogenes* ATCC 19615, *S. pyogenes* ATCC 12384, *S. pneumoniae* ATCC 6305, *S. agalactiae* ATCC 12386, isolado clínico de *S. agalactiae*, *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 25922. Após incubação a 35-37 °C durante 18-24 horas, os tipos de hemólise e a quantidade de crescimento são avaliados e registados. Todas as estirpes apresentam um bom crescimento com padrão hemolítico típico.

A precisão foi avaliada através da revisão dos dados de controlo de qualidade. Foram avaliados os resultados de 37 lotes produzidos entre 1/1/2019 e 25/5/2020. 100% dos lotes mostraram conformidade com os critérios de aceitação definidos em termos de produtividade e propriedades diferenciais (hemólise) com as estirpes-alvo.

12 - LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Devido ao teor de carboidratos (amido) do Columbia Blood Agar, os estreptococos β-hemolíticos podem apresentar uma reação α-hemolítica em torno de uma pequena zona clara de β-hemólise ou podem apresentar reações hemolíticas fracas.
- Dependendo das amostras analisadas e dos microrganismos a testar, recomenda-se a utilização de meios adicionais, tais como meios seletivos e ágar chocolate.
- O crescimento e o tipo de hemólise dependem das necessidades metabólicas dos organismos; é possível que algumas estirpes não cresçam e/ou apresentem modelos hemolíticos diferentes dos esperados. O *Haemophilus influenzae*, que requer tanto o fator X como o fator V, não cresce neste meio⁽¹⁰⁾; *Neisseria*, *Mycobacterium*, *Bordetella* e outros microrganismos com necessidades nutricionais altamente específicas não crescem adequadamente; para a deteção destes organismos, devem ser utilizados meios de cultura específicos.
- O dispositivo não se destina a diagnosticar infeções ou a orientar a terapia antimicrobiana. É utilizado num conjunto de investigações de diagnóstico para fornecer colônias microbianas isoladas de amostras clínicas de pacientes com suspeita de infeção bacteriana. São necessários testes adequados para a identificação completa e tipagem epidemiológica das colônias; se necessário, realize testes de suscetibilidade antimicrobiana utilizando os métodos recomendados.



**13 - PRECAUÇÕES E AVISOS**

- Este produto é um dispositivo de diagnóstico *in vitro* qualitativo destinado apenas a uso profissional, não é automatizado e não é uma ferramenta de diagnóstico complementar. Deve ser utilizado por pessoal de laboratório adequadamente treinado e qualificado, observando as precauções contra riscos biológicos e técnicas assépticas.
- Este produto não é classificado como perigoso de acordo com a legislação europeia em vigor.
- Este meio de cultura contém matérias-primas de origem animal. Portanto, recomenda-se que as placas prontas a usar sejam tratadas como potencialmente infecciosas e manuseadas observando as precauções específicas habituais: não ingerir, inalar ou permitir o contacto com a pele, olhos ou membranas mucosas. Descarregue a Declaração TSE do site www.biolifeitaliana.it, que descreve as medidas implementadas para a redução do risco associado a doenças animais infecciosas.
- Todas as amostras laboratoriais devem ser consideradas infecciosas.
- A área do laboratório deve ser controlada para evitar contaminantes, tais como meio de cultura ou agentes microbianos.
- Cada placa deste meio de cultura é de uso único.
- As placas prontas a usar não devem ser consideradas um «produto estéril», uma vez que não são sujeitas a esterilização terminal, mas sim um produto com bio-contaminação controlada, dentro dos limites das especificações definidas no Certificado de Controlo de Qualidade.
- Esterilize todos os resíduos biológicos perigosos antes da eliminação e elimine o meio não utilizado e as placas esterilizadas inoculadas com amostras ou estirpes microbianas, de acordo com a legislação local em vigor.
- Os Certificados de Análise e a Ficha de Dados de Segurança do produto estão disponíveis no site www.biolifeitaliana.it.
- Notifique o fabricante (complaint@biolifeitaliana.it) e as autoridades competentes sobre qualquer incidente grave ocorrido em relação ao uso dos diagnósticos *in vitro*.
- O fabricante não pode ser responsabilizado por qualquer perda ou dano resultante ou relacionado com a utilização do produto de forma não conforme com as instruções fornecidas.

14 - CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após a receção, armazene as placas na embalagem original a 2-8 °C, longe da luz direta. Se armazenadas corretamente, as placas podem ser utilizadas até à data de validade. Não utilize as placas após esta data. As placas de saquetas de plástico abertas podem ser utilizadas durante 7 dias quando armazenadas numa área limpa a 2-8 °C. Não utilize as placas se o saco plástico estiver danificado ou se o prato estiver partido. Não utilize as placas com sinais de deterioração (por exemplo, contaminação microbiana, desidratação, encolhimento ou fissuração do meio, cor atípica, excesso de humidade).

15 - REFERÊNCIAS

1. Ellner PD, Stoessel CJ, Drakeford E, Vasi, F. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Path* 1966; 45: 502-504.
2. Atlas D, Snyder J. Media Reagents and Stains. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.345.
3. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
4. ISO 10272-1, 10272-2: 2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: detection, part 2: enumeration
5. Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270.
6. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P, Piot P, Heuck CC. *Basic laboratory procedures in clinical bacteriology*. 2nd ed. 2003; Geneve: World Health Organization.
7. The Royal College of Pathologists. Bacteriology. <https://www.rcpath.org/profession/publications/standards-for-microbiology-investigations/bacteriology.html>
8. Balows, A., Hausler, W.J., Herrmann, KL, Isenberg HD and Shadomy, HJ (ed) (1991) In *Manual of Clinical Microbiology*, 5th edition, Washington, DC: American Society for Microbiology; 1991.
9. CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004
10. Nye KJ, Fallon D, Gee B, Messer S, Warren RE, Andrews N. A comparison of blood Agar supplemented with NAD with plain blood agar and chocolate blood agar in the isolation of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus Influenzae* from sputum. *Bacterial Methods Evaluation Group J Med Microbiol* 48 (12), 1111-1114 Dec 1999

TABELA DE SÍMBOLOS APLICÁVEIS

 Número de catálogo	 Código do lote	 Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 Fabricante	 Este lado para cima	 Apenas para uso único	 Marca de conformidade europeia
 Limitações de temperatura	 Conteúdo suficiente para <n> testes	 Consulte as instruções de utilização eletrónicas	 Utilizar até	 Manter afastado da luz solar	 Frágil, manusear com cuidado	 Identificador único do dispositivo

HISTÓRICO DE REVISÕES

Versão	Descrição das alterações	Data
Revisão 3	Alinhamento com o índice de revisão da língua inglesa	2025/10

Nota: pequenas alterações tipográficas, gramaticais e de formatação não estão incluídas no histórico de revisões.

