



ÁGAR COLUMBIA

CULTIVO E ISOLAMENTO DE MICRORGANISMOS EXIGENTES

USO

O Ágar Columbia é um meio nutritivo que permite o cultivo e o isolamento de uma grande variedade de microrganismos e, principalmente, microrganismos exigentes (como estreptococos e pneumococos), a partir de várias amostras clínicas. Ao adicionar sangue, agentes seletivos ou aceleradores de crescimento, é possível preparar uma grande variedade de meios adequados para usos específicos.

HISTÓRIA

Desenvolvido por Ellner em 1966, o Ágar Columbia produz culturas abundantes, áreas hemolíticas bem definidas, colônias e pigmentações distintas.

PRINCÍPIOS

As peptonas que entram na composição do meio promovem o excelente crescimento das colônias.

O extrato de levedura é uma fonte de vitaminas do complexo B.

O amido é um desintoxicante e também uma fonte de energia.

Sangue de ovelha desfibrinado, que pode ser adicionado ao meio, ajuda a detectar reações hemolíticas e fornece o fator X (heme) necessário para o crescimento de muitas bactérias, mas não contém o fator V (nicotinamida adenina dinucleotídeo), devido à presença de um DNase que destrói o DNA. *Haemophilus influenzae*, que requer os fatores X e V, não cresce em ágar sangue regular.

Com a base Columbia é possível preparar os seguintes meios:

- Ágar sangue: por adição de 5 ou 10% de sangue de carneiro estéril, após autoclavação e resfriamento, o meio é adequado para a cultura de estreptococos, pneumococos, estafilococos, *Listeria*, *Erysipelothrix*. Pode ser adicionado colistina e/ou ácido nalidíxico para evitar o desenvolvimento de microrganismos Gram-negativos e *Bacillus*.
- Ágar Chocolate: Ao adicionar 10% de sangue de carneiro ou cavalo ao ágar Columbia estéril, aquecer a 70°C por 5 minutos (obtendo uma tonalidade de chocolate), sendo um meio de cultivo para *Haemophilus*, *Neisseria*, *Typhlorella* e *Campylobacter*.
- Meio básico sem enriquecimento: ágar columbia permite a cultura de *Brucella abortus*, *Yersinia pestis*, *Clostridium perfringens* e *Enterobacteriaceae*

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio básico:

- | | |
|-----------------------------|--------|
| - Polipeptona | 23,0 g |
| - Amido de milho | 1,0 g |
| - Cloreto de Sódio | 5,0 g |
| - Ágar bacteriológico | 13,5 g |

pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,3 ± 0,2.



PREPARAÇÃO

- Suspender 42,5 g de meio desidratado (BK019) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve o meio para ferver com agitação constante até sua completa dissolução.
- Distribuir em tubos ou frascos.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar e manter a 44-47°C.
- Adicionar 5-7 mL de sangue de carneiro desfibrinado estéril, por frasco.
- Homogeneizar perfeitamente.
- Distribuir em placas de Petri estéreis e deixar solidificar em uma superfície fria.

-
Reconstituição:

42,5 g/L

- Esterilização:
15 min a 121°C

NOTA:

- Para outras aplicações, utilize o protocolo em vigor.

INSTRUÇÃO DE USO

- Estriar o inóculo de modo a obter colônias bem isoladas.
- Incubar a 37°C por 24 a 48 horas em condições ideais para o cultivo dos microrganismos semeados.

LEITURA

Observar o crescimento bacteriano.

Beta hemólise

Os estreptococos hemolíticos do grupo A de Lancefield desenvolvem colônias pequenas, cinza, translúcidas ou opacas cercadas por um halo de β -hemólise. Outras bactérias podem apresentar o mesmo tipo de hemólise: *Listeria*, estafilococos hemolíticos, *Escherichia coli* e *Pseudomonas*.

Os estafilococos produzem colônias opacas amarelo-ouro ou brancas com ou sem halo de β -hemólise.

Listeria tem um halo pequeno de β -hemólise.

Bacillus cereus não possui halo ao redor das colônias.

Consulte o ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

Alfa hemólise

Os pneumococos aparecem como colônias planas, lisas, acinzentadas, cercadas por uma zona de hemólise estreita, esverdeada, do tipo alfa.

Fator CAMP

Os estreptococos do grupo B produzem uma substância extracelular resistente ao calor (fator CAMP) que forma um triângulo de hemólise total na área de hemólise incompleta do estafilococo, na junção das duas culturas.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó bege e homogêneo.

Meio preparado (com 5% de sangue de ovelha desfibrinado): ágar vermelho, opaco.



Resultado do cultivo após 48 horas de incubação a 37°C, na presença de 5% de sangue de carneiro desfibrinado, pelo método de semeadura qualitativa:

Microrganismos		Crescimento	Tipo de hemólise
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC® 19615	Bom	Beta
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 6303	Bom	Alfa
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 19115	Bom	Beta
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Bom	-
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Bom	-

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio básico desidratado: 2-30°C.

A data de validade é mencionada no rótulo.

APRESENTAÇÃO

Meio desidratado:

Frasco de 500 g.....BK019HA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Neter, E. 1947. The effect of yeast concentrate on the growth and survival of *Haemophilus influenza* in infusion broth. Journal of Bacteriology, **54**: 70-71.

Thayer, J.D. and Martin, J.E. 1966. Improved medium selective for cultivation of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*. Public Health Report, **81**: 559-562.

Ellner, P.D., Stoessel, C.J., Drakeford, E. and Vasi, F. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. American Journal of Clinical Pathology, **45**: 502-504.

NF V08-405. Décembre 1986. Conserves. Recherche des *Clostridium thermophiles*.

NF U47-108. Décembre 2012. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de *Taylorella equigenitalis* à partir de prélèvements génitaux d'équidés.

NF EN ISO 10272-1. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. - Partie 1: méthode de recherche.

NF EN ISO 10272-2. Juillet 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Campylobacter* spp. - Partie 2: technique par comptage des colonies.

Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles: Recherche de microorganismes spécifiés.

OUTRAS INFORMAÇÕES

As declarações feitas nas etiquetas têm precedência sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitos a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: COLUMBIA_FR_V7.

Data de criação: 01-2003

Data de revisão: 01-2018

Motivo da revisão: Referências bibliográficas.

ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

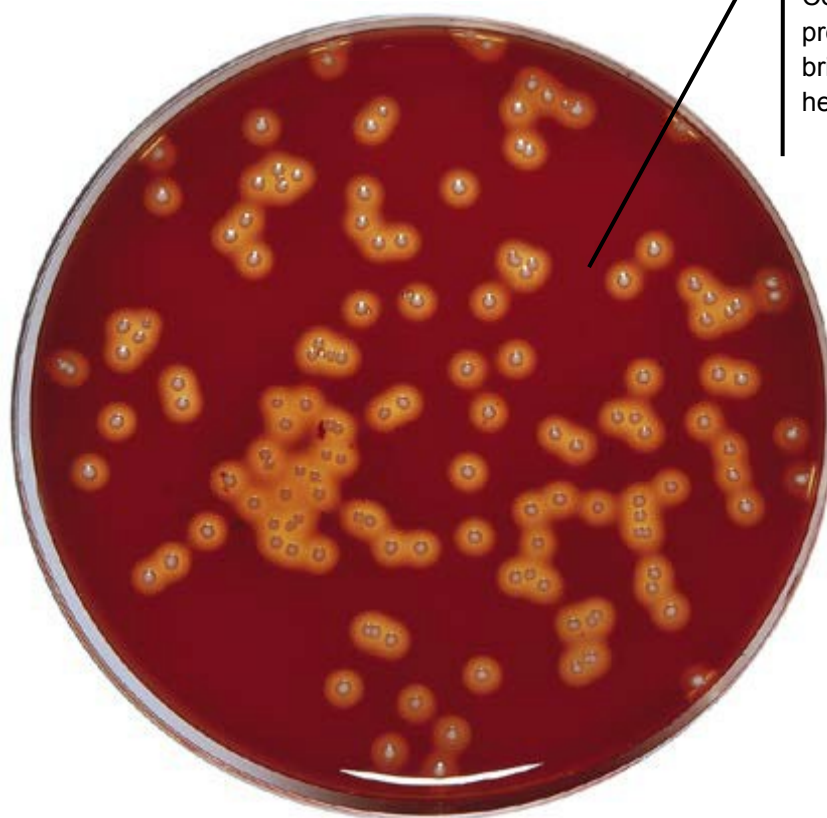
Columbia Agar (base)

Meio altamente nutritivo que permite o cultivo e o isolamento de uma grande variedade de microrganismos.

Leitura:

Ágar com 10% de sangue estéril de ovelha.

Incubação 48 horas a 37°C.



Estreptococo do grupo D

Colônia característica com presença de um halo de brilho acentuado (β -hemólise)