

# UNIDADE MÓVEL PARA CULTIVO DE ANAERÓBICOS

## MOBILE UNIT FOR ANAEROBIC CULTURE

J. Francisco HÖFLING

### ABSTRACT

It has become clear in recent years that anaerobic bacteria are important causes of many different types of infection. Any type of bacterial infection in humans may involve anaerobes. Holding and transporting specimens containing anaerobes in transport media, saline, or culture media may often lead to loss of viability of obligate anaerobes and to the overgrowth of facultatively anaerobic organisms from mixed culture infections. The holding-transport procedure now recommended by most pattern anaerobic laboratories is to place all specimens into sterile, dry, oxygen-free, CO<sub>2</sub>-filled stoppered tubes and to hold it at room temperature. Alternatively, specimens should be cultured immediately.

The present work describes an alternative equipment to be used as a mobile unit for anaerobic culture which may be moved into hospital room, operatory or wherever necessary to obtain clinical specimens for laboratory

study utilizing the pre-reduced media and techniques recommended by the anaerobic pattern laboratories.

## INTRODUÇÃO

Tem-se tornado bastante evidente nos últimos anos, que bactérias anaeróbicas são causas importantes e estão presentes em muitos tipos diferentes de infecções. Qualquer tipo de infecção em humanos pode envolver anaeróbios (1, 2, 3). Sem sombra de dúvida, a participação desses microorganismos em infecções mistas tem sido rotineiramente detectadas. A presença de microorganismos facultativos, particularmente se esses possuem características tintoriais (coloração de gram) semelhantes, podem levar a erros de diagnóstico bacteriológico. Quando aeróbios ou organismos facultativos não estão presentes, mesmo com bacterioscopia positiva, torna-se fácil a suspeita de anaeróbios. Um grande número de relatos de anaeróbios (a maioria bacilos gran-negativos, especialmente o grupo *Bacteróides fragilis*) em bacteriemias, justifica o isolamento rotineiro desses microorganismos em cultura pura (4, 5).

As espécies anaeróbicas não são normalmente isoladas pelos métodos de clínica usual. Essas bactérias anaeróbicas ocorrem em 68% dos espécimes examinados, excluindo fezes, urina e aqueles do trato respiratório superior. De todas as espécies examinadas, aproximadamente 25% contém somente bactérias estritamente anaeróbicas, 50% pertencem a ambos os tipos, ou seja, estritamente aeróbios e facultativos (1, 6, 2).

Técnicas de cultura têm sido desenvolvidas para o cultivo de material clínico com o objetivo de se isolar anaeróbios em meios de transporte, salina ou meios de cultura (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13). Essas técnicas, não raramente podem levar à perda de viabilidade celular de microorganismos anaeróbios estritos ou do crescimento de organismos anaeróbicos facultativos em infecções de cultura mista. Os procedimentos de manuseio e

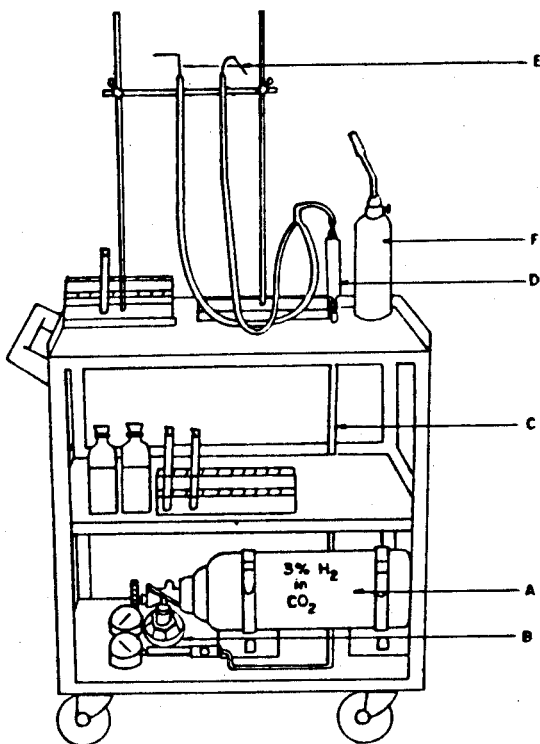
transporte desses microorganismos, recomendados pelos laboratórios padrões de anaeróbios, envolvem a permanência do material clínico coletado em tubos com rosca estéreis, com uma mistura de 3% de H<sub>2</sub> (hidrogênio) em CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono), livres de oxigênio mantidos à T. A. Alternativamente as amostras podem ser cultivadas imediatamente após a coleta. Assim, um dos fatores cruciais que afetam o sucesso da cultura de anaeróbios é o transporte dos espécimes. A bactéria precisa ser protegida do efeito letal do oxigênio durante o período de coleta até o manuseio em laboratório.

O presente trabalho descreve a construção de um equipamento alternativo para o manuseio e cultura de anaeróbios, o qual pode ser usado onde haja necessidade de se obter material clínico para a análise laboratorial microbiológica, usando-se meios de cultura pré-reduzidos e técnicas recomendadas pelas instituições que regulamentam os laboratórios clínicos padrões(14).

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a montagem do equipamento, foi utilizado o esquema do modelo, como pode ser observado na Fig. 1 com as seguintes características: a) cilindro de gás. b) válvula de redução e controle de gás. c) tubo de cobre para o transporte de gás às cânulas. d) catalisador de oxo para a remoção de traços de oxigênio. e) cânulas de saída de gás e f) esterilizador para tubos, agulhas, etc. Todos esses componentes estão dispostos numa armação móvel construída em metal, à semelhança de um carrinho hospitalar, conforme mostra a figura descrita.

A fig. 2 mostra os componentes em separado, os quais fazem parte do equipamento como um todo, para um melhor entendimento dos detalhes de construção. Esta constou da disposição dos componentes de acordo com o esquema inicial, fixação na armação móvel, justaposição e conexão das partes em separado, para permitir o fluxo contínuo de gás ao meio de cultura apropriado.



**Figura 1.** Esquema da unidade móvel para a coleta de anaeróbios. a) cilindro com a mistura de gases, b) válvula reguladora de gás, c) tubo de cobre, d) purificador, e) canulas esterilizadoras

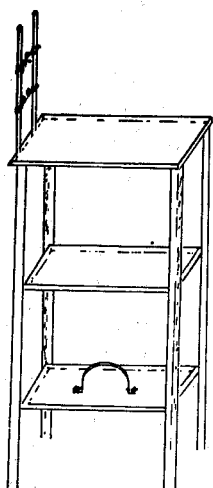


Fig. (a)

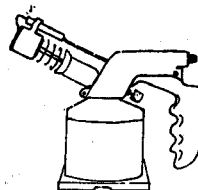


Fig. (b)

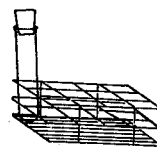


Fig. (e)



Fig. (d)



Fig. (c)

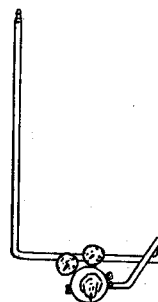


Fig. (f)

**Figura 2.** Componentes usados na montagem do equipamento. a) unidade móvel, b) esterilizador, c) cilindro de gás, d) pinça para tubos, e) estante com tubos para meio de culturas, f) regulador automático de pressão para gases.

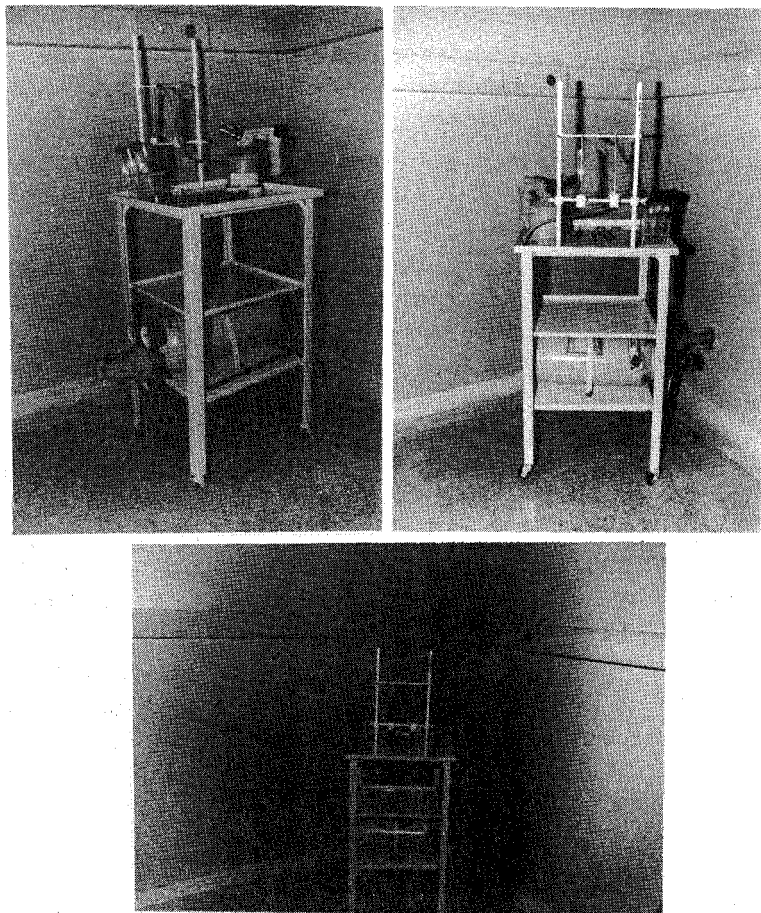
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho se propôs à construção de uma unidade móvel para uso hospitalar, e para a obtenção de espécimes para estudos e pesquisas de laboratório (com microorganismos anaeróbios), utilizando-se meios pré-reduzidos e técnicas recomendadas pelos laboratórios padrões de anaeróbios.

Os resultados obtidos e apresentados na Fig. 3, mostram que o equipamento foi desenvolvido e construído de acordo com a proposta inicial, com pequenas modificações. Os resultados obtidos com o seu funcionamento, mostram que o equipamento é viável, podendo ser utilizado para os fins propostos. Embora tivéssemos muitas dificuldades para tornar realidade um projeto dessa natureza, hoje podemos verificar que ganhamos muita experiência, onde pudemos constatar (entre outras coisas) a dificuldade, a falta de infra-estrutura e disponibilidade dentro da Universidade para trabalhos dessa natureza, o que nos forçou a procurar ajuda fora da mesma. Mesmo assim, esse projeto, que em princípio parecia relativamente fácil, nos exigiu muito empenho e perseverança para a sua concretização.

O funcionamento do equipamento móvel, ora desenvolvido com fins específicos, pressupõe o uso ideal de uma mistura de gases constituindo-se de 3% de hidrogênio em dióxido de carbono, o que justifica o emprego de um regulador (válvula) específico para gases especiais, conforme recomendações da empresa de gases White Martins, podendo, opcionalmente conter um purificador de gases, projetado para remover - do fluxo gasoso - óleo, umidade e outras impurezas prejudiciais ao processo.

Levando-se em conta que tais componentes contribuem para aumentar o custo do equipamento como um todo e que a não existência de tais acessórios não inviabilizariam o seu funcionamento, conforme contactos que mantivemos com pesquisadores que trabalham nessa área, da Universidade de Umea, Suécia, durante o período de estágio que realizamos nesse País e através da leitura da bibliografia disponível, passamos a descrever algumas opções com relação à construção do equipamento para uso rotineiro no manuseio com microorganismos anaeróbios.



**Figura 3.** Fotografia em vários ângulos do equipamento móvel para a coleta e manuseio de microrganismos anaeróbios.

- Opção 1. Construção do equipamento, contendo os itens mencionados e descritos conforme a Fig. 1, com um regulador de gases especiais tipo UPD 200/2 cf. especificação da White Martins sem necessidade do purificador, incluindo a mistura de gases especiais contendo 3% de hidrogenia com CO<sub>2</sub> (alta pureza).
- Opção 2. Idem conforme Fig. 1, com regulador UPD 200/2, sem purificador, contendo 3% de H<sub>2</sub> em CO<sub>2</sub> (comercial).
- Opção 3. Idem conforme Fig. 1, com regulador simples não específico para gases especiais, contendo dióxido de carbono comercial.

A construção do equipamento na realidade, não é oneroso estando na dependência do material e infra-estrutura disponível para cada setor. O que encarece um pouco o seu funcionamento, é a manutenção da mistura de gases necessária e ideal, 3% H<sub>2</sub> em CO<sub>2</sub>, disponível no mercado pelas empresas credenciadas, como a White Martins. O ideal seria que instituições tipo Universidade ou instituto de pesquisa pudessem fornecer tal mistura de gases a um preço acessível, o que tornaria o funcionamento do equipamento viável como rotina.

A disciplina de Microbiologia e Imunologia coloca à disposição as informações necessárias para a construção do equipamento, assim como detalhes do seu funcionamento.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FINEGOLD, S. M. (1977). Anaerobic bacteria in human disease, New York, Academic Press, Inc.
2. \_\_\_\_\_ & MARTIN, W. J. (1982). Diagnostic Microbiology, 6 th Ed, St. Louis, The C. V. Moshey Co.
3. BUCHANAN, R. E. & GIBBON, N. E. (1974) editors: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ed. 8, Baltimore. The Williams and Wilkins Co.



4. FELNER, J. M. & DOWELL, V. R. Jr. "Bacteroides" bacteremia, *Am. J. Med.* 50: 787-796, 1971
5. GONZALES-C, C. L. & CALIA, F. M. (1975) Bacteriologic flora of aspiration induced pulmonary infections, *Arch Intern. Med.* 135: 711-714
6. BALOWS, A.; DEHAAN, R. M. ; DOWELL, V. R. Jr; editors. (1974). *Anaerobic bacteria: role in disease*, Springfield, Il., Charles C. Thomas, Publisher.
7. BEERENS, H. & TAHON-CASTEL, M. (1965) *Infection humaines à Bactéries Anérobies Non Toxigènes* Bruxelles, Presses Académiques
8. BEAUCAGE, C. M. & ONDERDONK, A. B. (1982) Evaluation of pre-reduced anaerobically sterilized medium (PRAS II) System for identification of anaerobic microorganisms, *J. Clin. Microbiol.* 16: 570-572
9. DOWELL, V. R. Jr., & HAWKINS, T. M. (1974) Laboratory methods in anaerobic bacteriology CDC Laboratory Manual, DHEW Publication No (CDC) 74-8272, Washington, D. C., V.S. Government Printing office.
10. \_\_\_\_\_ & LOMBARD, G. L. (1981) Reactions of anaerobic bacteria in differential agar media, U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Center for Disease Control, Atlanta, GA.
11. \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_ THOMPSON, F. S.; ARMFIELD, A. Y. (1977). Media for isolation, characterization, and identification of obligately anaerobic bacteria, Atlanta, GA, Center for Disease Control.
12. GOODMAN, A. D. (1977). Isolation of anaerobic bacteria from the root canal systems of necrotic teeth by use of a transport solution, *Oral Sugar* 43: 766-770
13. MURRAY, P. R. & SONDAG, J. E. (1978) Evaluation of routine subcultures of macroscopically negative blood cultures for detection of anaerobes, *J. Clin. Microbiol.* 08: 427-430
14. National Committee for clinical laboratory Standards. (1978) Standard procedures for handling and transport of diagnostic medical specimens and etiologic agents, TSH-5, NCCLS, Villanova, PA, the Committee.