

## Finalidade:

Meio de cultura diferencial destinado à triagem (identificação presuntiva) de enterobactérias oxidase negativa, como por exemplo em coproculturas onde alguns gêneros de enterobactérias tais como *Proteus* e *Providencia* não possuem significado clínico.

## Registro ANVISA:

10097010135

## Apresentação:

510102 - RUGAI C/ LISINA-4/2mL-TB 13X100-CX 20TB

LB 170741  
Rev. 17 – 08/2024

## 1. INTRODUÇÃO

A família *Enterobacteriaceae* é a maior e mais heterogênea família de importância médica. São considerados atualmente 27 gêneros, 102 espécies e 8 grupos indefinidos.

São bacilos gram negativos, não esporulados, com motilidade variável, oxidase negativos, e que crescem em meios básicos, meios ricos e seletivos. São anaeróbios facultativos (crescem em aerobiose e anaerobiose), fermentam a glicose com ou sem produção de gás, catalase positivos e reduzem nitrato a nitrito.

A maioria das enterobactérias é encontrada no trato gastrointestinal de humanos, no reino animal, na água, solo e vegetais. Alguns também são considerados enteropatógenos por causarem preferencialmente infecções gastrointestinais como a *Salmonella typhi*, outras espécies de *Salmonella*, *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica* e alguns sorotipos de *Escherichia coli*, embora possam também causar infecção em outros locais. As enterobactérias representam 80% ou mais de todos os gram negativos de importância clínica isolados na rotina microbiológica. São responsáveis por de cerca de 70% das infecções urinárias e 50% das septicemias.

As enterobactérias que atualmente predominam em infecções hospitalares são *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. (90%) seguidos de *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp., *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Serratia* spp. As enterobactérias menos isoladas são *Edwardsiella* spp., *Hafnia* spp., *Yersinia* spp. Baseado em dados de prevalência e importância clínica, considera-se necessário que os laboratórios de microbiologia utilizem metodologia que permita discriminar com  $\geq 80\%$  de acerto.

O meio proposto por Rugai & Araújo (1968) tinha por objetivo a identificação presuntiva de bacilos intestinais gram-negativos. Este meio que era composto por um conjunto de provas foi modificado por Pessoa & Silva (1972) onde foram incorporadas mais provas bioquímicas. Com o conjunto destas provas agrupadas em um único tubo, analisam-se diferentes reações enzimáticas, produção de gás e motilidade.

O objetivo do meio de Rugai com lisina é o de triar bioquimicamente as colônias suspeitas que, se encontradas, devem ser identificadas por um sistema mais sensível e apropriado, como por exemplo, o Kit para Enterobactérias Laborclin ou o Sistema Bactray.

O meio de Rugai com Lisina apresenta uma série bioquímica contendo nove provas que são agrupados em um único tubo, sendo elas: reação de indol (IND), desaminação do aminoácido *L*-triptofano (LTD), fermentação da sacarose (SAC), produção de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), produção de gás (GAS), hidrólise da ureia (URE), fermentação da glicose (GLI), descarboxilação da lisina (LIS) e motilidade (MOT).

## 2. COMPOSIÇÃO

Reativo de Kovacs *	Concentração/ L
<i>p</i> -Dimetilaminobenzaldeído	50 g
Ácido clorídrico	250 mL
Butanol	750 mL

Papel Revelador para Prova de Indol *	
Disco de papel de filtro sem impregnação de reagentes	

Ágar Rugai com Sacarose *	Concentração/ L
<i>L</i> -triptofano	0,4 g
Fosfato dissódico	0,8 g
Cloreto de sódio	2g
Citrato de ferro amoniacal	2g
Tiosulfato de sódio	2g
Glicose ou Dextrose	10g
Nutrientes	23g
Azul de bromotimol	15g
Ureia	40g
Sacarose	80g
Ágar	4,4g
Água deionizada	1L
pH 6,4± 0,2 a 25°C	

Fase Intermediária *	Quantidades
Vaselina	90g
Cera de carnaúba	10 g

Ágar LMI *	Concentração/ L
Extrato de levedura	1,2 g
Ágar ágar	1,6 g
Nitrato de potássio	0,2 g
Dextrose	0,2 g
<i>L</i> -Lisina	2 g
Solução púrpura de bromocresol 0,2%	4 mL
Água deionizada	400 mL
pH final 6,4± 0,2 a 25 °C	

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

## 3. MATERIAL

### a- Amostras

- Colônias recém-obtidas de bacilos gram negativos, fermentadores da glicose, provenientes de meios de isolamento adequados.
- As colônias a serem identificadas devem ser recentes (no máximo de 24h). Caso a identificação tenha de ser protelada, deve-se proceder ao repique do material em meio apropriado e a uma nova incubação a 35°C por 18 a 24 horas, para então realizar a identificação.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos micro-organismos alvo das análises, micro-organismos com necessidades

especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

#### 4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

##### a- Princípio

Este meio possui triptona, extrato de carne e levedura, os quais são utilizados como fonte de carbono e nitrogênio. O *L*-triptofano é o substrato para produção de indol volátil, revelado pelo *p*-dimetilaminobenzaldeído no papel de filtro contido na tampa do tubo, e ácido indol pirúvico, revelado pelo citrato férrico amoniacal juntamente com o gás sulfídrico que é produzido a partir do tiosulfato de sódio. A glicose e sacarose funcionam como fonte de carbono para produção de energia e permitem o teste de fermentação. A *L*-lisina é um substrato para produção de cadaverina, através da *L*-lisina descarboxilase. O nitrato de potássio impede a formação de gás na parte inferior do tubo e a ureia permite a detecção da enzima urease. O azul de bromotimol e púrpura de bromocresol são indicadores de pH.

##### b- Reagentes

Tubos de vidro contendo duas porções de meio de cultura sendo divididos por uma fase intermediária.

A porção superior é composta por uma mistura de vários substratos, sais e indicadores. A porção intermediária é constituída de uma cera que possui a finalidade de evitar a positividade da porção inferior que por sua vez é constituída por um meio semi-sólido, substratos e solução indicadora.

##### c- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72 horas. No laboratório os tubos devem ser armazenados entre 2 e 12°C, condições em que se mantêm estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Considerando que este produto é gelatinoso e sua composição pode apresentar até 80% de água, ao sofrer variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) todo meio de cultura pode gerar condensação, de pouca a muita, acumulando água no tubo. Recomenda-se desprezar a água acumulada e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura antes de sua utilização.

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa ( $\pm 37^{\circ}\text{C}$ ) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/ estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do meio, expor o produto a contaminações ou gerar um acúmulo de água excessivo.

A água acumulada por condensação, ocasionada por alguma variação de temperatura, não influencia no desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento, contaminação ou diminuição de espessura.

Devido à presença de suplementos na formulação, recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

##### d- Precauções e cuidados especiais

- O produto destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais de análises clínicas;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;
- Não utilizar tubos com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;

- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;

- O produto é fornecido estéril. Caso seja evidenciada contaminação microbiana ou a embalagem esteja violada ou danificada antes de seu uso, não utilizar e entrar em contato com o SAC (Serviço de Assessoria ao cliente).

- O procedimento de descarte do produto se baseia na RDC 222 (ANVISA) de 28 de Março de 2018, que regulamenta as boas práticas de gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde.

- Para acondicionamento do material a ser autoclavado, recomendamos o uso dos sacos para autoclavagem - DetriLab.

#### 5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica
- Bico de Bunsen
- Agulha bacteriológica

#### 6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

a- Retirar da embalagem a quantidade de tubos a serem usados e colocar os mesmos em estufa bacteriológica a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  até adquirirem esta temperatura;

b- Retirar os tubos da estufa e identificar cada um seguindo os critérios adotados pelo laboratório;

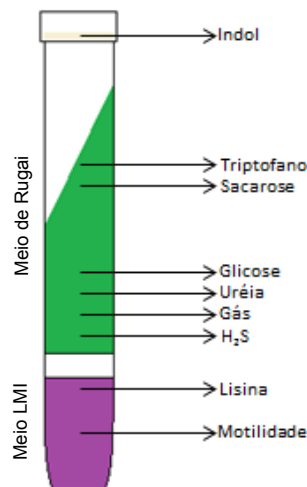
c- Usando a agulha bacteriológica estéril, encostar na superfície de uma colônia.

d- Inocular através de uma picada central, passando pela fase intermediária, atingindo o meio LMI, sem tocar o fundo do tubo de vidro.

e- Retornar a agulha em direção à superfície, percorrendo o mesmo caminho e ao atingir a superfície fazer o estriamento em todo o ápice do meio;

f- Incubar em estufa bacteriológica a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 18 a 24 horas com a tampa frouxa.

g- Realizar leitura das provas nos meios.



#### a) Meio de Rugai

##### LEITURA REALIZADA NA BASE

##### - Fermentação da Glicose

**OBS:** esta prova deve ser obrigatoriamente positiva para todas as enterobactérias, devendo-se atentar para o fato de que, nos casos de bactérias que produzem  $\text{H}_2\text{S}$  ou hidrolisam a ureia, a cor amarela é mascarada.

Reação positiva: meio amarelo

Reação negativa: meio inalterado

##### - Produção de Gás:

Reação positiva: Formação de bolhas ou rachaduras

Reação negativa: meio inalterado

##### - Produção de Sulfeto de Hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ )

Reação positiva: presença de pigmento negro

Reação negativa: ausência de pigmento negro

- Hidrólise da Ureia

Reação positiva: coloração azul esverdeada

Reação negativa: meio inalterado

LEITURA REALIZADA NO ÁPICE

- Desaminação do L-Triptofano:

Reação positiva: meio verde escuro ou acastanhado

Reação negativa: meio inalterado

- Fermentação da Sacarose:

Reação positiva: meio amarelo

Reação negativa: meio inalterado

**b) Meio de Lisina**

- Descarboxilação da Lisina

Reação positiva: meio com coloração púrpura

Reação negativa: meio com coloração amarelo

- Motilidade

Reação positiva: turvação do meio

Reação negativa: crescimento do micro-organismo apenas na picada central

**c) Prova do Indol**

- Realizar a leitura imediata, após pingar 1 a 2 gotas do Reativo de Kovacs.

Reação positiva: viragem da cor do reativo para rosa

Reação negativa: reativo com coloração inalterada (amarela)

Após realizar leitura dos resultados das provas, consultar tabelas para identificação presuntiva.

**7. RESULTADOS**

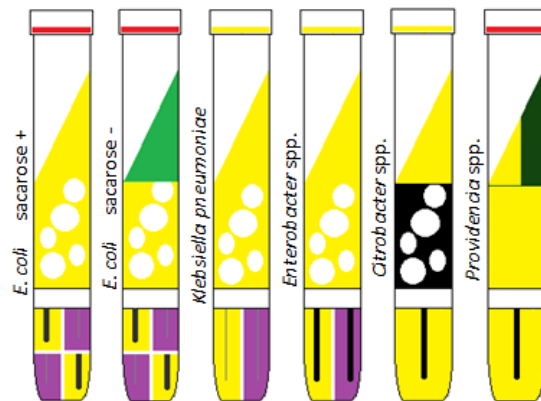
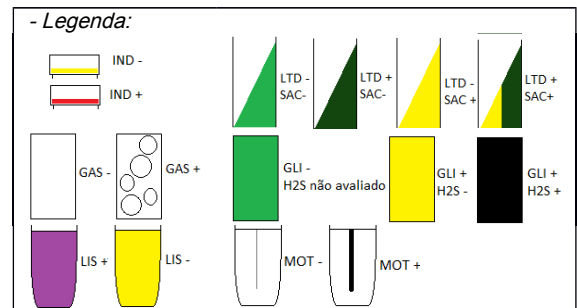
A qualidade dos resultados de análises microbiológicas está intimamente ligada à qualidade da amostra, as melhores práticas pré-analíticas, como cuidados extremos com a assepsia do processo ou paciente, assim como a utilização de meios de cultura indicados e de boa qualidade garantem um melhor resultado.

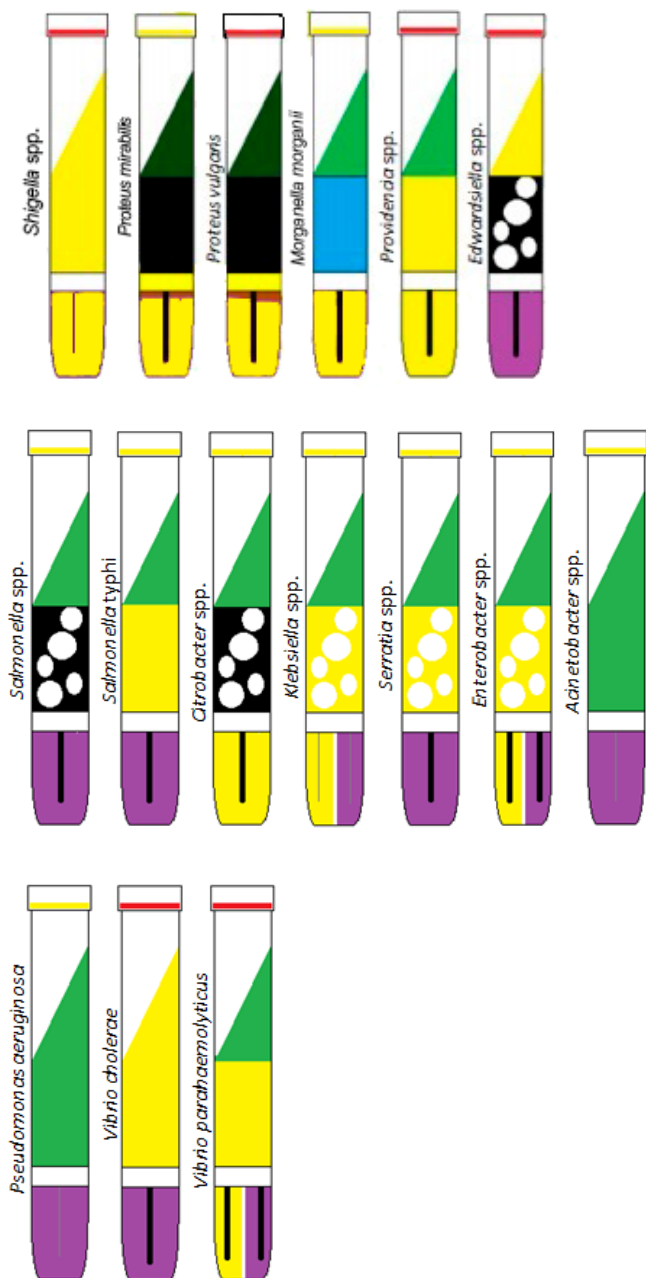
Reações bioquímicas para identificação presuntiva das principais espécies da família *Enterobacteriaceae*.

Microrganismo	LAC	GÁS	H <sub>2</sub> S	URE	LTD	MOT	IND	LDC	SAC
<i>Citrobacter freundii</i>	78	89	78	44	0	89	33	0	89
<i>Citrobacter diversus</i>	50	98	0	75	0	95	99	0	40
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	35	97	5	85	0	95	100	0	9
<i>Cedecea</i> spp.	0	100	0	0	0	95	0	0	V
<i>Edwardsiella tarda</i>	0	100	100	0	0	98	99	100	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	93	97	0	65	0	95	0	0	97
<i>Enterobacter agglomerans</i>	40	100	0	2	0	97	0	98	97
<i>Enterobacter gergoviae</i>	55	98	0	93	0	90	0	90	98
<i>Enterobacter sakazakii</i>	99	98	0	1	50	96	11	0	10
<i>Escherichia coli</i>	95	95	1	1	0	95	98	90	95
<i>Escherichia fergusonii</i>	0	95	0	0	0	93	98	95	0
<i>Escherichia hermanii</i>	45	97	0	0	0	99	99	6	45
<i>Shigella</i> spp.	0	0	0	0	0	0	50	0	0
<i>Shigella sonnei</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella (Antigo Enterobacter) aerogenes</i>	95	100	0	2	0	97	0	98	100
<i>Klebsiella oxytoca</i>	100	97	0	90	1	0	99	99	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	98	97	0	95	0	0	0	98	99
<i>Klebsiella ozaenae</i>	50	50	0	10	0	0	0	40	20
<i>Morganella morganii</i>	1	90	20	95	95	95	95	1	0

<i>Proteus mirabilis</i>	2	96	98	98	98	95	2	0	15
<i>Proteus vulgaris</i>	2	85	95	95	99	95	95	0	97
<i>Providencia rettgerii</i>	5	10	0	98	98	94	99	0	15
<i>Providencia stuartii</i>	2	0	0	30	95	85	98	0	50
<i>Providencia alcalifasciens</i>	0	85	0	0	98	96	99	0	15
<i>Salmonella</i> spp.	1	96	95	1	0	95	1	98	0
<i>Salmonella typhi</i>	1	0	97	0	0	97	0	98	0
<i>Salmonella choleraesuis</i>	0	95	50	0	0	95	0	95	0
<i>Salmonella paratyphi</i>	0	99	10	0	0	95	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	2	55	0	15	0	97	1	99	99
<i>Serratia liquefaciens</i>	10	75	0	3	0	95	1	95	98
<i>Serratia rubideae</i>	100	30	0	2	0	85	0	55	99
<i>Yersinia enterocolitica</i>	5	5	0	75	0	2	50	0	95
<i>Yersinia pestis</i>	0	0	0	5	0	0	0	0	0
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	0	0	0	95	0	0	0	0	0
<i>Hafnia alvei</i>	5	98	0	4	0	85	0	100	10

**RESULTADOS ESPERADOS:**





**8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO**

- O meio de Rugai com lisina deve ser utilizado apenas para a triagem (identificação presuntiva). No caso da necessidade de identificação completa sugere-se a utilização de provas adicionais ou sistemas de identificação de maior abrangência.
- As provas bioquímicas deste meio devem ser utilizadas apenas para bacilos gram negativos fermentadores da glicose. No caso da inoculação de bacilos gram negativos não fermentadores da glicose, há crescimento do micro-organismo apenas na superfície do ágar, sem alteração das demais provas.
- Devido ao elevado número de provas bioquímicas realizadas em um único tubo, é necessária cautela durante a interpretação dos resultados, pois, em alguns casos algumas provas podem ser mascaradas, como por exemplo, o excesso da produção de H<sub>2</sub>S que mascara os resultados de LTD, glicose e ureia para espécies de *Proteus*.
- Alguns microrganismos apresentam distintos perfis em meio presuntivo de identificação, por exemplo *E. coli*. Isto se deve à grande variabilidade fenotípica que existe entre os isolados.
- O excesso de inóculo poderá causar um crescimento exagerado da bactéria provocando o deslocamento do meio caso a bactéria

- produza gás a partir da glicose, bem como a dupla perfuração da cera (fase intermediária) ou uma perfuração de grande calibre.
- O inóculo com quantidade reduzida de micro-organismos, pode levar a resultados negativos ou com tempo de viragem superior a 24 horas, principalmente nas provas que ocorrem no meio LMI.
- A interpretação do teste de motilidade pode ser dificultada, ou lida de forma equivocada, quando no momento da sementeira, o retorno da agulha no retorno do caminho percorrido, não seja o mesmo.
- Devido à composição do reativo de indol, exclusivo para pesquisa de indol volátil, o mesmo deve ser pingado no papel de filtro contido na tampa do tubo, pois se for utilizado diretamente no meio, a reação poderá ser falso-negativa.

**- Riscos Residuais identificados:**

Os resultados falsamente positivos ou negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Tempo longo entre a sementeira 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 pode ficar defasada 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.
- Utilização de agulha flambada não resfriada.
- Sobrecarga de inóculo ou falta de inóculo. Inóculos mais carregados fornecem 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. O 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.
- A não incubação dos tubos com a tampa frouxa pode ocasionar falsos resultados negativos.
- A não utilização de reativo fornecido juntamente com os tubos pode ocasionar falsos resultados negativos ou positivos.
- Erro na conservação do produto pode ocasionar desidratação do meio e alteração das propriedades dos componentes

**9. CONTROLE DA QUALIDADE**

**- Materiais necessários**

Cepas padrão: ATCC® (American Type Culture Collection) ou derivadas).

**- Controle de qualidade recomendado:**

Cepas	Provas	Resultados esperados
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739	IND	POSITIVO
	LTD	NEGATIVO
	SAC	NEGATIVO
	GAS	POSITIVO
	H <sub>2</sub> S	NEGATIVO
	GLI	POSITIVO
	URE	NEGATIVO
	LIS	POSITIVO
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 35218	MOT	POSITIVO
	IND	NEGATIVO
	LTD	NEGATIVO
	SAC	POSITIVO
	GAS	POSITIVO
	H <sub>2</sub> S	NEGATIVO
	GLI	POSITIVO
	URE	NEGATIVO
LIS	POSITIVO	
MOT	POSITIVO	



<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC® 13047	IND LTD SAC GAS H <sub>2</sub> S GLI URE LIS MOT	NEGATIVO NEGATIVO NEGATIVO POSITIVO NEGATIVO POSITIVO NEGATIVO NEGATIVO POSITIVO
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 13883	IND LTD SAC GAS H <sub>2</sub> S GLI URE LIS MOT	NEGATIVO NEGATIVO NEGATIVO POSITIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO NEGATIVO
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 25933	IND LTD SAC GAS H <sub>2</sub> S GLI URE LIS MOT	NEGATIVO POSITIVO NEGATIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO NEGATIVO NEGATIVO
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC® 13076	IND LTD SAC GAS H <sub>2</sub> S GLI URE LIS MOT	NEGATIVO NEGATIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO
Meio não inoculado	<p>- EPM (porção superior): meio sólido com coloração verde azulada, livre de precipitado ou partículas visíveis.</p> <p>- Cera (porção intermediária): cera de coloração branca.</p> <p>- LMI (porção inferior): meio semi-sólido de coloração púrpura, livre de precipitado ou partículas visíveis.</p>	

\* As cepas sugeridas atendem as recomendações literárias, a decisão sobre quais cepas controle serão utilizadas, e como serão empregadas, cabe ao laboratório.

#### - Periodicidade

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

#### - Análise dos resultados

As cepas inoculadas no material devem apresentar características de crescimento esperados. Caso se constate algum problema ou diferença, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

Devido à composição do produto e as variações bioquímicas e fenotípicas de amostras e cepas controle, não é viável a execução de estudos de sensibilidade e especificidade.

Na execução de 100 culturas, executadas com as principais cepas-padrão, a partir de suspensões de inóculos idênticos, compatíveis com a turvação do tubo 0,5 da Escala de Mac Farland, apresentou coeficiente de variação igual a 4,93%.

#### 10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;

- Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;

- Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site [www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br). Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail [sac@laborclin.com.br](mailto:sac@laborclin.com.br). Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

#### 11. REFERÊNCIAS

- AL-HINDAWI, N.; TAHA, R.R. Salmonella species isolated from animal feed in Iraq. Applied and Environmental Microbiology, v.37, n.4, p.676-9, 1979.
- BANTON, C.L.; PARKER, D.; DUNN, M. Chemical treatment of feed ingredients. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.35, p.637, 1984.
- BERCHIERI Jr., A.; ÁVILA, F.A.; PAULILLO, A.C.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; MARQUES, M.A.S.; MATSUDA, H.J. Pesquisa de salmonelas em farinhas de origem animal utilizadas no preparo de rações. Científica, v.11, n.2, p.165-8, 1983.
- BERCHIERI Jr., A.; IRINO, K.; NEME, S.N.; PAULILLO, A.C.; CALZADA, C.T.; FERREIRA, S.A.; PESSOA, G.V.A. Contaminação por salmonela em farinhas de origem animal utilizadas no preparo de ração. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.4, n.3, p.83-8, 1984.
- EDEL, W.; KAMPELMACHER, E.H. Salmonella isolation in nine european laboratories using a standardized technique. Bulletin of the World Health Organization, v.41, p.297-306, 1969.
- FINEGOLD, S.M.; Baron, E.J. Diagnóstico microbiológico. B. Aires: Ed. Médica Panamericana, 7a ed, 1989.
- GIORGI, W.; OHASHI, K.; ARAÚJO, W.P. Farinha de carne e farinha de peixe como fontes de salmonelas para animais. Arquivos do Instituto Biológico, v.38, n.2, p.59-62, 1971.
- HUHTANEN, C.N.; NAGHSKI, J. Effect of type of enrichment and duration of incubation on Salmonella recovery from meat and bone meal. Applied Microbiology, v.23, n.3, p.578-85, 1972.
- KAFEL, S.; BRYAN, F.L. Effects of enrichment media and incubation conditions on isolating Salmonellae from ground meat filtrate. Applied and Environmental Microbiology, v.34, n.3, p.285-91, 1977.
- LENETTE, Edwin H. Microbiologia clínica, B. Aires: Editorial Médica panamericana, 3a ed., 1982.
- MAHON, C.E.; Manuselis Jr., G. Diagnostic microbiology, Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1995.
- OPLUSTIL, C.P., Zoccoli, C.M., Tobouti, N.R., e Sinto, S.I. Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica, Sarvier, São Paulo, 2000.
- KONEMAN, Elmer W. Diagnóstico microbiológico. Guanabara Koogan 6ed., 2010.
- PESSOA Gil Vilat Alvares – Meios de Rugai e Lisina – motilidade combinados em um só tubo. Rev. Inst. Adolfo Lutz 32:97-100 197.
- RIEMANN, H. Effect of water activity on the heat resistance of salmonella in dry materials. Applied Microbiology, v.16, n.10, p.1621-2, 1968.
- RUGAI, E.; ARAÚJO, A. Meio de cultura para identificação presuntiva de bacilos Gram-negativos. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v.28, p.79-83, 1968.
- SHANE, S.M. England releases salmonella data. Zootecnica International, v.16, n.12, p.20-5, 1993.
- SMYSER, C.F.; BACHARZ, J.; VAN ROEKEL, H. Detection of Salmonella typhimurium from artificially contaminated poultry feed and animal byproducts. Avian Diseases, v.7, n.4, p.423-34, 1963.
- SMYSER, C.F.; SNOEYENBOS, G.H. Evaluation of several methods of isolating salmonellae from poultry litter and animal feedstuffs. Avian Diseases, v.13, n.1, p.134-41, 1969.
- STOKES, J.L.; OSBORNE, W.W. A selenite brilliant green medium for the isolation of salmonella. Applied Microbiology, v.3, p.217-20, 1955.

21. TAYLOR, W.I.; SILLIKER, J.H. Isolation of salmonellae from food samples. IV. Comparison of methods of enrichment. Applied Microbiology, v.9, p.484-6, 1962.

**Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda**

CNPJ 76.619.113/0001-31  
Insc. Estadual 1370012926  
Rua Casimiro de Abreu, 521  
Pinhais/PR CEP 83.321-210  
Telefone (41) 3661-9000  
www.laborclin.com.br

**Responsável Técnico:**

Maire Wakamori – CRF/PR-20176  
Serviço de Assessoria ao Cliente  
SAC 0800-0410027  
sac@laborclin.com.br



**ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS**

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho

	Não utilizar		Não reesterilizar
---	--------------	---	-------------------

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)