

Finalidade:

Meio de cultura líquido, utilizado para o enriquecimento de amostras nas quais se deseja recuperar *Salmonella* e *Shigella*, p.ex coprocultura.

Registro ANVISA:

10097010137

Apresentação:

510080 - TETRATIONATO CALDO 4mL TB 13X100 CX 10TB

LB 172079
Rev. 08 – 08/2024

1. INTRODUÇÃO

O Caldo Tetrionato é um meio líquido para enriquecimento seletivo de amostras nas quais se deseja recuperar *Salmonellas* e *Shigellas*. Caldo de Tetrionato, com adição de solução de iodo e iodeto de potássio é usado como um meio de enriquecimento seletivo para o isolamento de *Salmonellas* e *Shigellas* em materiais de importância sanitária.

A concorrência entre diferentes gêneros bacterianos, presentes em uma mesma amostra, pode inibir o crescimento das espécies do gênero *Salmonella* spp. O enriquecimento seletivo amplia em muito a possibilidade de recuperação, evitando a liberação de resultados falsos negativos.

O Caldo Tetrionato é utilizado para o enriquecimento seletivo para o cultivo de *Salmonella* spp. que pode estar presente em pequena quantidade na flora intestinal, competindo com a mesma. A *Salmonella* também pode ser injuriada em procedimentos para o processamento de alimentos, que incluem exposição a baixas temperaturas, aquecimento sub-letal, secagem, radiação, preservantes e antissépticos. *Salmonella* spp. causa vários tipos de infecções, desde gastroenterite autolimitada leve a febre tifoide fatal. Mueller demonstrou a efetividade do Caldo Tetrionato para enriquecer bacilos tifoídes e paratifoídes enquanto inibe coliformes. Com a utilização do caldo modificado Mueller, Kauffmann aumentou o número de isolados positivos. O Caldo Tetrionato, abreviado Caldo TT, é especificado em métodos padrões em testes para *Salmonella*. O Caldo Tetrionato é utilizado no processamento de culturas fecais para bactérias.

O Caldo Tetrionato foi originalmente descrito por Mueller que descobriu que o meio inibiu seletivamente os coliformes, permitindo que os patógenos entéricos crescessem sem restrição. Kaufmann modificou o meio de Mueller e alcançou uma porcentagem ainda maior de isolado.

O Tetrionato contém peptonas que fornecem nitrogênio, vitaminas, aminoácidos e carbono. Sais biliares que inibe o crescimento de microrganismos gram-positivos. O carbonato de cálcio neutraliza e absorve o tóxico metabolitos. O iodo é adicionado no momento do uso, reagindo com o tiossulfato para formar o tetrionato. O crescimento das enterobactérias que reduzem o tetrionato, como *Salmonella*, é relativamente normal, enquanto os coliformes e outras enterobactérias não redutoras são suprimidas. A redução do tetrionato produz ácido, neutralizado pelo carbonato de cálcio presente na formulação.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/L
Proteose Peptona	2,5g
Digesto Pancreático de Caseína	2,5
Sais Biliares	1,0g
Tiossulfato de Sódio	30,0g
Carbonato de Cálcio	10,0g
Água deionizada	1000mL
pH 8,4± 0,2 a 25°C	

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho do produto.

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras

- Amostras que se deseja pesquisar *Salmonellas* e *Shigellas*.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos 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 do Método

A Digestão Pancreática da Caseína fornece nitrogênio, carbono, vitaminas e aminoácidos no Caldo Tetrionato. A seletividade é alcançada através da combinação de Tiossulfato de Sódio e Tetrionato, que suprimem os organismos intestinais comensais. O Tetrionato é formado no meio pela adição da solução de iodo e iodeto de potássio. Organismos que contém a tetrionato redutase proliferarão no meio. Os Sais Biliares, um agente seletivo, suprime os coliformes e inibe organismos Gram-positivos. O Carbonato de Cálcio neutraliza e absorve metabolitos tóxicos.

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório os tubos devem ser armazenados em temperatura de 2 a 12°C, condições em que se mantém 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.

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, 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 produto ou expor o produto a contaminações.

c- Precauções e cuidados especiais

- Produto destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;
- 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;
- 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 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 autoclavação - Detrilab.
- Contate o serviço de vigilância sanitária de sua região para garantir o cumprimento correto da legislação de descarte de produtos potencialmente contaminantes.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Micropipeta;
- Ponteiras estéreis;
- Bico de Bunsen;

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- Retirar da embalagem a quantidade de tubos a ser usada (devolver o restante à geladeira) e colocar os mesmos em estufa bacteriológica a 35-37°C até adquirirem esta temperatura;
- Retirar os tubos da estufa e identificar;
- Adicionar 0,2mL de Lugol para Tetrionato no tubo de caldo Tetrionato;
- Inocular o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório;
- Incubar por período de tempo exigido pela técnica adotada;
- Prosseguir análise de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório.

7. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

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

- Os caldos de enriquecimento não devem ser usados como única fonte de isolamento. Estes devem ser utilizados conjuntamente com meios seletivos e não seletivos para aumentar a probabilidade de se isolar os patógenos, especialmente quando presentes em pequenas quantidades.
- O crescimento bacteriano depende de particularidades individuais de cada microrganismo. É, portanto, possível que certas cepas que tenham requisitos específicos (substrato, temperatura, condições de incubação diferenciadas) podem não se desenvolver.
- Tempo diferente do preconizado. Incubação por período de tempo mais curto (inferior ao período de 18 horas) não se garante a recuperação dos micro-organismos alvo e a não seletividade referente à possível flora presente.
- Incubação em temperatura inadequada.
- Técnica de assepsia inadequada.
- 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.

8. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

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

- Controle de qualidade recomendado:

Parâmetro	Resultado esperado	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	≥10 colônias em Ágar XLD, após semear um volume de 0,01mL	33-37°C/24 horas Inóculo aprox. de 100UFC
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	≥10 colônias em Ágar TSA, após semear um volume	33-37°C/24 horas

	de 0,01mL	Inóculo ≥1000UFC
Meio não inoculado	Meio líquido levemente opalescente quando em repouso ou turvo quando homogeneizado, com coloração esverdeada, apresentando alguns precipitados em suspensão.	

- Periodicidade

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

- Análise dos resultados

Os tubos de Caldo Tetrionato testados com cepas padrão devem expressar os resultados esperados. Caso se constate algum problema, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

9. 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. 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. 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.

10. REFERÊNCIAS

- Barnhart, H. M., D. W. Dessen, R. Bastien, and O. C. Pancorbo. Prevalence of Salmonella enteritidis and other serovars in ovaries of layer hens at time of slaughter. *J. Food Prot.* 54:488-492, 1991.
- Difco Manual, edition 2009.
- Eckner, K. F., W. A. Dustman, M. S. Curiale, R. S. Flowers, and B. J. Robison. Elevated-temperature, colorimetric, monoclonal, enzyme linked immunosorbent assay for rapid screening of Salmonella in foods; collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 77:374-383, 1994.
- Federal Register. Animal and plant health inspection service: chicken affected by Salmonella enteritidis, final rule, Fed. Regist. 56:3730-3743. 1991.
- Hartman, P. A., and S. A. Minnich. 1981. Automation for rapid identification of salmonellae in foods. *J. Food Prot.* 1981.
- Isenberg, H. D. (ed.). *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1, American Society for Microbiology. Washington, D. C. 1992.
- Kauffmann, F. Ein kombiniertes anreicherungsverfahren fur typhus und-paratyphusbacillen. *Zentralb. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskr. Hyg. Abr. I orig.* 113:148. 1930.
- Kauffman, F. Weitere Erfahrungen mit den kombinierten Anreicherungsverfahren fur Salmonella bacillen. *Z. Hyg. Infektionskr.* 117:26. 1953.
- Jones, F. T., R. C. Axtell, D. V. Rives, S. E. Scheideler, F. R. Tarver, Jr., R. L. Walker, and M. J. Wineland. A survey of Salmonella contamination in modern broiler production. *J. Food Prot.* 54:502-507, 1991.
- Knox, R., P. H. Gell, and M. R. Pollack. Selective media for organisms of the Salmonella group. *J. Pathol. Bacteriol.* 54:469-483. 1942.

11. MacFaddin, J. F. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Williams & Wilkins, Baltimore, MD. 1945.
12. Marshall, R. T. (ed.). Standard methods for the examination of dairy products. 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 1993.
13. Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (eds.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, 1995.
14. Mueller, L. Un Nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. C. R. Soc. Bio. 89:434. Paris, 1923.
15. United States Pharmacopeial Convention. The United States pharmacopeia, 23rd ed. The United States Pharmacopeial Convention. Rockville, MD. 1995.
16. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (eds.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 1992.

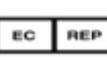
**Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda**

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)