

Finalidade:

Meio de cultura líquido, utilizado para o enriquecimento seletivo de amostras nas quais se deseja recuperar *Salmonella* spp, por ex. de alimentos.

Registro ANVISA:

Não Aplicável

Apresentação:

510177 - MÜLLER KAUFFMANN 10mL 16X150 CX10TB

LB 172199
Rev. 04 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

O Caldo Muller Kauffmann adicionado de lugol e novobiocina é utilizado para enriquecer salmonelas de amostras de alimentos e ambientais, antes do isolamento seletivo.

O Caldo Tetrionato é usado como um enriquecimento seletivo para o cultivo de espécies de *Salmonella* que possam estar presentes em pequenas quantidades em alimentos, aos quais passam por processamento que incluem exposição a baixas temperaturas, secagem, radiação e conservantes. Embora células lesadas possam não formar colônias em meios seletivos, elas podem ser ingeridas e causar doenças.

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.

Após o pré-enriquecimento, a etapa de enriquecimento seletivo destrói a maior parte da flora concorrente, permitindo que a *Salmonella* seja recuperada. Muller recomendou o Caldo Tetrionato como meio seletivo para o isolamento de *Salmonella*. Kauffmann modificou a fórmula para incluir sais biliares e verde brilhante como agentes seletivos para suprimir bactérias como *Proteus* spp. Jeffries descreveu a adição de novobiocina a 40 mg por litro de caldo para suprimir ainda mais o crescimento de *Proteus* spp. O uso de mais de um caldo seletivo aumenta o isolamento de *Salmonella* de amostras com múltiplos sorotipos.

O caldo Muller Kauffmann Tetrionato base contém peptona e extrato de carne como fontes de carbono, nitrogênio, vitaminas e minerais. O carbonato de cálcio é o agente tamponante. O tiosulfato de sódio é uma fonte de enxofre.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/L
Extrato de carne	4,3g
Digesto Enzimático de Caseína	8,6g
Cloreto de Sódio	2,6
Carbonato de Cálcio	38,7
Tiosulfato Sódio Penta hidratado	47,8
Bile Desidratada	4,78g
Verde Brilhante	9,6mg
Água	1L
pH 8,0± 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 de alimentos ou outras amostras que se deseje pesquisar *Salmonella* spp.
- 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- 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 tubos 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 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.

b- Precauções e cuidados especiais

- Produto destinado apenas para o uso *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 autoclavagem - Dextrilab.
- 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

- a- 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;
- b- Retirar os tubos da estufa e identificar;
- c- Adicionar 0,2 mL de Lugol para Tetrionato e 1 disco de Novobiocina 400µg no tubo de Caldo Muller Kaufmann;

- d- Inocular o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório;
e- Incubar por período exigido pela técnica adotada;
f- 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 mais curto (inferior ao período de 18 horas) não se garante a recuperação dos microrganismos 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:

Cepas	Resultado esperado	
Produtividade qualitativa - <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	≥10 colônias em Ágar XLD, após semear um volume de 0,01mL	33-37°C/24 Inóculo aprox. de 100UFC
Seletividade qualitativa – <i>E. coli</i> ATCC 25922	≤100 colônias em Ágar TSA, após semear um volume de 0,01mL	33-37°C/24 Inóculo ≥1000UFC
Seletividade qualitativa - <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	< 10 colônias em Ágar XLD, após semear um volume de 0,01mL	33-37°C/24 Inóculo ≥1000UFC
Meio não inoculado	Meio líquido opaco esverdeado, com precipitado esverdeado quando em repouso, que quando agitado torna-se homogêneo.	

- *Periodicidade*

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

- *Análise dos resultados*

Os tubos de Caldo Muller Kauffmann testados com cepas padrão devem expressar os resultados esperados. Caso se constate algum problema, os resultados das amostras 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

1. APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.
2. Difco Manual, edition 2009.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
5. SILVA, de Neusely; *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2017.
4. ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1ª ed. The International Organization for Standardization.
5. SILVA, de Neusely; *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2017.

11. PRODUTOS RELACIONADOS

520300 - LUGOL P/ TETRACIONATO-FR 100mL
641236 - NOVOBIOCINA 400 µg-FR 50DISCOS




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 Europeia
	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)