

Finalidade:

Caldo para enriquecimento seletivo para pesquisa de *Salmonella* spp. nas fezes.

Registro ANVISA:

10097010137

Apresentação:

510081 - SELENITO CALDO 4mL TB 13X100 CX 10TB

LB 172210
Rev. 05 – 08/2024

1. INTRODUÇÃO

As *Salmonellas* são bactérias gram-negativas, em forma de bacilo, na sua maioria móveis (com flagelos peritríquios), não esporuladas, não capsuladas, sendo que a maioria não fermenta a lactose.

Fermentam arabinose, maltose, manitol, manose, ramnose, sorbitol, trealose, xilose e dulcitol. A maioria das *Salmonellas* de interesse clínico não fermentam lactose, contudo, muitas cepas podem adquirir esta característica através de transferência plasmidial. São oxidase negativo, catalase positivo, indol, Voges-Proskauer (VP), vermelho de metila (VM), malonato e uréia negativos. Produzem gás sulfídrico a partir da redução do enxofre por ação da enzima cisteína desulfidrase. Apresentam ainda como características metabólicas a capacidade de descarboxilar os aminoácidos lisina e ornitina, reduzir nitratos a nitritos e utilizar o citrato como fonte única de carbono. No entanto, ocorrem variações em função do sorovar e/ou subespécie.

O trato intestinal do homem e dos animais é o principal reservatório natural deste patógeno. Dentre as de maior importância para a saúde humana, destacam-se a *Salmonella typhi* (*Salmonella enterica enterica* sorovar Typhi), que causa infecções sistêmicas e febre tifoide – doença endêmica em muitos países em desenvolvimento – e a *Salmonella Typhimurium* (*Salmonella enterica enterica* sorovar Typhimurium), um dos agentes causadores das gastroenterites.

A *Salmonella* spp. é eliminada em grande número nas fezes, contaminando o solo e a água. A sobrevivência no meio ambiente pode ser muito longa, em particular na matéria orgânica. Pode permanecer viável no material fecal por longo período (anos), particularmente em fezes secas, sendo ainda encontrada em efluentes de água de esgoto, como resultado de contaminação fecal.

As *Shigellas* são bactérias gram-negativas, anaeróbias facultativas, imóveis, não-esporuladas e em forma de bastão intimamente relacionadas com a *Escherichia coli* e *Salmonella*. Espécies de *Shigella*, que incluem *Shigella sonnei*, *S. boydii*, *S. flexneri*, e *S. dysenteriae*, são agentes altamente infecciosos.

Todas as bactérias deste gênero não são capazes de metabolizar a lactose e não produzem H₂S. Tais propriedades ajudam a distinguir estas bactérias da *Escherichia coli*, uma vez que esta fermenta a lactose, e a distingui-las da *Salmonella*, pois esta apesar de não fermentar a lactose produz H₂S. Estas bactérias não produzem esporos.

Embora *S. dysenteriae* seja a espécie responsável por surtos graves de disenteria bacilar em países tropicais, raramente é encontrada na Europa e na América do Norte onde *S. sonnei* é a espécie mais comum. Esta é a espécie que origina sintomas menos severos enquanto a sintomatologia causada por *S. flexneri* e *S. boydii* pode ser considerada de severidade intermediária.

É o agente causador da shigelose humana e pode causar esta doença em outros primatas, mas não em outros mamíferos, sendo encontrada naturalmente apenas em humanos e macacos. Durante a infecção normalmente causa disenteria.

A via fecal-oral é a principal forma de transmissão da *Shigella* spp. entre humanos. A *Shigella* geralmente é transmitida através de alimentos crus, como alface e produtos não processados. Água contaminada por fezes e manipuladores com falta de higiene são a

causa mais comum de contaminação alimentar e surtos por essa bactéria.

O modo de agir destes microrganismos é semelhante ao da *Escherichia coli*. Estas bactérias invadem as células epiteliais do intestino e libertam uma toxina, conhecida como toxina de Shiga. Esta toxina vai provocar a destruição das células do epitélio e uma reação inflamatória. A doença começa com sintomas de febre, dores na zona do abdômen e diarreia. As fezes podem apresentar machas de sangue vivo. A diarreia é devida ao fato do intestino inflamado ser incapaz de reabsorver a água.

Salmonelose

A salmonelose é considerada uma infecção zoonótica, uma vez que é uma doença de animais que pode ser transmitida a humanos. Os animais para consumo são infectados através do contato com outros animais infectados, por exemplo aves e roedores, ou através do consumo de rações ou de água contaminados.

A dose infectante varia de 10⁵ a 10⁸ células, porém, em pacientes imunocomprometidos, têm sido observadas doses ≤ 10³ para alguns sorovares envolvidos em surtos de doenças de transmissão alimentar – DTA. A manifestação clínica inclui quadros entéricos agudos ou crônicos, além de localização extraintestinal, como infecções septicêmicas, osteomielite, artrite, hepatite etc. Os microrganismos penetram por via oral, invadindo a mucosa intestinal, com disseminação para a submucosa, resultando em enterocolite aguda. Normalmente, o quadro diarreico é moderado, sem a presença de sangue, entretanto, em alguns quadros clínicos, pode ocorrer perda de pequeno volume de fezes associado a tenesmo e sangue. Seu transporte, através do sistema retículo endotelial, aliado à capacidade de multiplicação no interior dos macrófagos, possibilita sua manutenção e disseminação no organismo. Indivíduos subnutridos ou com deficiências do sistema imune podem apresentar infecções de extrema gravidade, como a incidência de bacteremia em pacientes aidéticos, dos quais 20% a 60% relatam infecção gastrointestinal prévia. Sua virulência é multifatorial, incluindo mobilidade, habilidade de penetrar e replicar nas células epiteliais, resistência à ação do complemento, produção de entero, cito e endotoxina, sendo desconhecido o exato papel de cada um, para a manifestação da doença.

Shigelose

A shigelose, também conhecida como disenteria bacteriana, é uma forma de intoxicação alimentar com diarreia sanguinolenta, que tem como agente etiológico a bactéria do gênero *Shigella*.

As *Shigella* são bactérias gram-negativas, imóveis, anaeróbicas facultativas, pertencentes à família Enterobacteriaceae. Dentre elas, existem diversas espécies que podem causar disenteria, como *S. dysenteriae* (sintomas mais graves), *S. flexneri*, *S. boydii* e *S. sonnei* (menos grave).

Ao contrário de outros patógenos que habitam o intestino, as *Shigella* são altamente invasivas. Estas bactérias produzem a Exotoxina ShT1 (no caso da *S. dysenteriae*, esta produz a Exotoxina Shiga) responsável por destruir ribossomos das células nas quais se hospedam, bloqueando a síntese protéica e matando, assim, a célula.

São fagocitadas pelas células M presentes na mucosa intestinal, invadindo a submucosa, sendo então fagocitadas por macrófagos. Como são resistentes à fagocitose, induzem a apoptose do

macrófago. Por conseguinte, produzem proteínas extracelulares específicas, denominadas invasinas, que lhes possibilitam acoplar e invadir os enterócitos, multiplicando-se neles até destruí-los.

Adquire-se a infecção por meio da ingestão de água contaminada ou alimentos contaminados. Também foi demonstrado que essa bactéria pode ser transmitida por contato pessoal. Sua ocorrência se dá mais comumente em países em desenvolvimento, pois sua transmissão é eficazmente combatida pelas medidas básicas de higiene. Nos países desenvolvidos, é responsável por aproximadamente 7% dos casos de intoxicação alimentares. Infectam apenas os seres humanos, sendo necessárias serem ingeridas apenas algumas centenas para provocarem a doença.

O período de incubação dessa bactéria varia de 12 a 48 horas.

O aparecimento dos sintomas surge entre 1 e 4 dias após a ingestão do alimento contaminado. A dose infecciosa é baixa, provavelmente inferior a 100 microrganismos. Os sintomas mais comuns incluem dores abdominais, vômitos, diarreia com muco e, por vezes, sangue nas fezes e febre.

A evolução clínica da shigelose é normalmente favorável desaparecendo os sintomas entre 3 e 14 dias após ingestão do alimento contaminado. Alguns indivíduos continuam portadores assintomáticos da bactéria durante vários meses. As infecções causadas por *S. dysenteriae* são as mais severas e normalmente implicam o recurso à antibioterapia.

Depois de ingerida, a bactéria irá invadir as células intestinais, destruindo-as e, conseqüentemente, levará à perda de capacidade de absorção de água por parte delas, e à hemorragia dos vasos locais, com perda adicional de muco acentuada após a destruição das células calciformes. O resultado dessa destruição é a diarreia sanguinolenta e mucóide, denominada disenteria. Essa diarreia vem acompanhada de febre, dores intestinais e dor ao evacuar as fezes (tenesmo). Os principais riscos são a extensão da hemorragia e a peritonite, bem como a excessiva desidratação. Outras manifestações clínicas também podem acompanhar o quadro, como náuseas, vômitos, cefaléia, convulsões nas crianças e mialgia.

Caldo Selenito

Os caldos de enriquecimento seletivo são utilizados para diminuir a quantidade de bactérias da microbiota intestinal normal no espécime fecal, inibindo de alguma forma seu metabolismo e propiciando o desenvolvimento franco dos verdadeiros enteropatógenos. Estes caldos devem ser sempre utilizados como uma etapa prévia, uma vez que a sementeira direta das fezes em meios sólidos geralmente leva a um supercrescimento da microbiota normal, em detrimento às poucas colônias que podem ser formadas pelos verdadeiros patógenos.

O caldo Selenito é utilizado no enriquecimento e isolamento de *Salmonella* e *Shigella*. Com capacidade de inibir o crescimento de coliformes e outras espécies da flora intestinal como estreptococos, e propriedades para enriquecer *Salmonella* sp. e *Shigella* sp.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/ L
Lactose	4,0
Fosfato de sódio	10,0g
Triptona	5,0g
Selenito de sódio	4,0
Água deionizada	1000mL
pH 7,0 ± 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 material fecal ou outros materiais nos quais se pretende pesquisar a presença de *Salmonella* e *Shigella*.
- 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 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.

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.

b- 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 autoclavagem - 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;
- Alças de inoculação 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;
- Inocular de forma asséptica com o auxílio de uma alça estéril, o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório;
- Incubar a 35-37°C por 6 horas (ou por período diferente que seja definido pelo laboratório);
- 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 24 horas) não se garante a recuperação dos microrganismos alvo e a não seletividade referente à possível flora presente.

- Incubação superior ao preconizado (superior a 26h) pode não garantir a recuperação dos micro-organismos alvo e sua consequente inibição.

- 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	Crescimento bom
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Inibição Total
Meio não inoculado	Meio líquido, ligeiramente amarelado, podendo apresentar 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 Selenito 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

1. COSTA, G. A. & Hofer. Isolamento e identificação de enterobactérias. Instituto Oswaldo Cruz-RJ, 1972.

2. FORBES, Sahn and Weissfeld. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby, Inc., St. Louis, Mo, 2007.

3. HOHMANN, E. L. Nontyphoidal salmonellosis. Clinical Infectious Diseases, Chicago, v. 32, p. 263-269, 2001.

4. ISENBERG, H. D. (ed.). Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1 p. 1.61-1.67. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1992.

5. KONEMAN, A.; Sommers, J.R. Diagnóstico microbiológico. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 1989.

6. MACFADDIN, J. F. Media for Isolation-Cultivation-Identification- Maintenance of Medical bacteria. Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1985.

7. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella* / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

8. MURRAY, P. R. *et al.* Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, 2007.

9. OPLUSTIL, C. P. *et al.* Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 3. ed. São Paulo, 2010.

10. RODRIGUES, D. P.; Lazaro, N. S.; Reis, E. M. F. Manual de procedimentos para diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2008.



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)