

Finalidade:

Meio para prova bioquímica, teste de fermentação da lactose e hidrólise da gelatina para *Clostridium perfringens*.

Registro ANVISA:

10097010134

Apresentação:

510100 - LACTOSE GELATINA 10mL TB16X150 10TB

LB 172236
Rev. 04 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

Clostrídios sulfítos redutores, como diz o nome, são os clostrídios que reduzem o sulfito a sulfeto de hidrogênio (H₂S) a 46°C. Como *Clostridium perfringens* cresce bem a 46°C, essa temperatura é utilizada para dar uma indicação mais precisa de *Clostridium perfringens*, reduzindo o número de espécie que podem crescer.

São Gram positivas na forma de bastonetes, anaeróbias estritas e imóveis. São esporogênicas e esporulam facilmente no intestino, mas raramente em meios de cultura. Cerca de três quartos das cepas também formam cápsulas, predominantemente compostas de polissacarídeos. São sulfito redutoras, fermentam a lactose, reduzem o nitrato e hidrolisam a gelatina.

Os clostrídios podem ser encontrados amplamente distribuídos no ambiente. Solo, água doce e água marinha, e sedimentos são algumas fontes naturais. Espécies de *Clostridium* são uma das principais causas de intoxicação alimentar/doenças gastro-intestinais. Alguns patógenos muito potentes do gênero *Clostridium* são *Clostridium botulinum*, *Clostridium tetani* e *Clostridium perfringens*, que são capazes de produzir toxinas altamente tóxicas. Recomenda-se Lactose Gelatina para a detecção de *Clostridium perfringens* em alimentos.

No caldo Lactose Gelatina a peptona de carne e o extrato de levedura fornecem nitrogênio, compostos de carbono, vitaminas e aminoácidos. A lactose é o açúcar fermentável, e o vermelho de fenol age como indicador de fermentação, que muda de vermelho para amarelo devido à produção de ácido.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/L
Digesto Enzimático de Caseína	15,0g
Extrato de Levedura	10,0g
Lactose	10,0g
Gelatina	120,0g
Vermelho de Fenol	0,05g
pH 7,5± 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 que necessite confirmação de *Clostridium perfringens*.

- 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 (± 35°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 *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;
- Micropipeta;
- Ponteiras estéreis;
- Fogareiro;
- 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 33-37°C até adquirirem esta temperatura;

b- Retirar os tubos da estufa e identificar;

c- Inocular uma alçada em tubos de Meio de Lactose Gelatina (previamente des aerados);

d- Incubar a 33-37°C/24-44h.

e- Observar se há formação de bolhas e viragem ácida do indicador (vermelho de fenol),

7. RESULTADOS

- Considerar confirmados como *Clostridium perfringens* as culturas com alteração da cor do meio de vermelha para amarela (fermentação da lactose positiva). Se o meio permanece com a cor inalterada (fermentação da lactose negativa).

- Transferir os tubos para uma geladeira e manter sob refrigeração por duas horas, observando em seguida se o meio permanece líquido (hidrólise da gelatina positiva) ou se adquire uma consistência firme (hidrólise da gelatina negativa);
- O *Clostridium perfringens* fermenta a lactose e hidrolisa a gelatina.
- O *Clostridium sporogenes* não fermenta a lactose, porém hidrolisa a gelatina.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

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

- Tempo longo entre a semeadura 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 podem consequentemente ficar defasados 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.
- A não utilização de suspensões bacterianas previamente preparadas em caldo tioglicolato fornecem resultados falsamente negativos.
- A não fervura dos meios antes de sua inoculação fornecem resultados falsamente negativos.
- 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.
- 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 bem fechada pode ocasionar falsos resultados negativos, por entrada de oxigênio.
- A não utilização de suplementos fornecidos pela Laborclin pode ocasionar falsos resultados negativos ou positivos.
- Erro na conservação do produto pode ocasionar desidratação do meio e alteração das propriedades dos componentes
- Deve-se evitar o uso de materiais que possam contaminar os reagentes, tais como ponteiros plásticos de micropipetador reaproveitados.
- Interpretação equivocada de resultados.
- Incubação em temperatura inadequada.
- Armazenamento ou transporte de amostra inadequado.
- Não utilizar a proporção amostra reagente sugerida na técnica.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

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

- Controle de qualidade recomendado:

Cepas	Resultado esperado
Especificidade - <i>C. perfringens</i> ATCC 13124 33-37°C/24h	Formação da lactose: reação positiva (coloração amarela do meio) Hidrólise da gelatina: reação positiva (meio permanece líquido, após refrigeração)
Especificidade – <i>C. perfringens</i> ATCC 13124 – Sob refrigeração/2h	Permanecendo líquido: hidrólise da gelatina positiva Adquirindo uma consistência firme: Hidrólise da gelatina negativa

Meio não semeado

Meio de coloração avermelhada.

- Periodicidade

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

- Análise dos resultados

Os tubos do Meio de lactose gelatina 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.

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. 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.

11. REFERÊNCIAS

1. APHA: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.
2. BEERENDS, H., CRIQUELION, J., LEPAGE, C., ROMOND, CD. Dénombrement en milieu liquide de *Clostridium perfringens* dans les aliments. Ann. Fals. Chim. 74:181-184. 1981.
3. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Clostridium perfringens*.
4. ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1st 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.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

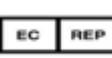
CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone (41) 3661-9000

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)