

MANITOL SALT ÁGAR

**Finalidade:**

Meio seletivo e diferencial indicado para o isolamento de Estafilococos. Seletividade devido ao alto teor salino e diferenciação através da fermentação de manitol.

Registro ANVISA:

10097010134

Apresentação:

540165 - MANITOL SALT-AGAR-20mL-PL 90X15-10PL

540202 - MANITOL SALT-AGAR-20mL-RODAC-10PL

LB 172281
Rev. 07 – 08/2024

1. INTRODUÇÃO

Koch, em 1942, informou que somente o *Staphylococcus* cresce em ágar contendo 7,5% de cloreto de sódio. Chapman estudou este fenômeno em maior detalhe e concluiu que a adição de 7,5% de cloreto de sódio no ágar manitol vermelho de fenol resultou em um meio melhor para o isolamento do *Staphylococcus* coagulase positiva. O Manitol Salt Ágar é o meio recomendado para a enumeração de bactérias Gram positivas em cosméticos, espécies clínicas e produtos farmacêuticos. A USP recomenda o Manitol Salt Ágar como meio para isolamento do *Staphylococcus aureus* no exame microbiológico de produtos não estéreis.

A quantificação de *Staphylococcus* é feita pelo método de contagem padrão em placas, utilizando o Manitol Salt Ágar como meio de cultivo. O manitol Salt Ágar é um meio nutritivo devido à peptona e extrato de carne presentes na formulação, que fornecem fatores de crescimento essenciais, como o nitrogênio, carbono, enxofre e traços de nutrientes. A concentração de 7,5% de cloreto de sódio resulta na inibição parcial ou completa da grande maioria das outras bactérias. A fermentação do manitol é evidenciada pela alteração do indicador vermelho de fenol, que ajuda na diferenciação das espécies de *Staphylococcus*. O ágar é o agente de solidificação.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/L
Digestão Pancreática de Caseína	5,0g
Digestão Péptica de Tecido Animal	5,0g
Extrato de carne	1,0g
D- Manitol	10,0g
Cloreto de Sódio	75,0g
Vermelho de Fenol	25mg
Agar	15,0 g
pH 7,4± 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

Tipos de amostras

- Vários tipos de amostras podem ser inoculadas no Manitol Salt Ágar, como por exemplo, amostras de cosméticos, farmacêuticas, ambientais e outros materiais.

- 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 as placas devem ser armazenadas em temperatura de 2 a 8°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.

Considerando que este produto é gelatinoso e pode conter até 80% de água, variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) podem causar condensação em todo o meio de cultura, resultando em acúmulo de água na placa. Recomenda-se armazenar as placas com os meios de cultura virados para cima e, quando necessário, remover a água acumulada e permitir que o meio de cultura estabilize à temperatura ambiente antes de utilizá-lo.

Para acelerar o processo de secagem ou estabilização, pode-se utilizar uma incubação em estufa a aproximadamente 35°C. Não é recomendado repetir o processo de refrigeração e estabilização,

pois as mudanças frequentes de temperatura podem causar desidratação do meio, expor o produto a contaminações ou resultar em acúmulo excessivo de água.

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

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

b- Precauções e cuidados especiais

- O 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 placas 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 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 e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos 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;
- Bico de Bunsen;
- Alças bacteriológicas.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

a- Retirar o pacote de placas da geladeira e separar as placas a serem usadas, retornando o pacote à geladeira;

b- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura;

c- Semear o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório referentes ao acondicionamento, preparo e diluições;

d- Incubar por período exigido pela técnica adotada.

e- Realizar a leitura.

7. RESULTADOS

Havendo crescimento de colônias amarelas indica a presença de *Staphylococcus aureus* e havendo crescimento de colônias vermelhas indica a presença de *Staphylococcus epidermidis*. Devendo, por tanto, ser realizada confirmação bioquímica conforme metodologia estabelecida pelo laboratório.

7.1 Cálculo para placas 90x15

a- Contagem de *Staphylococcus* UFC/g ou UFC/mL

b- Multiplicar o número de colônias por 10 e pelo inverso da diluição.

Nota: ou seguir contagem e expressão de resultados conforme critério adotado pelo laboratório.

7.2 Cálculo para placas RODAC

a- Contar o número de colônias desenvolvidas;

b- Calcular o número de microrganismos viáveis m², considerando o número de colônias, área da placa.

c- Área da placa RODAC = 25cm².

d- N° de microrganismos viáveis = n° colônias/25x10.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO*(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 36/2015)*

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

- O desenvolvimento de colônias com as características típicas do Manitol Salt Ágar não é confirmatório. A identificação das colônias que se desenvolverem neste meio, devem ser realizadas provas bioquímicas referenciadas;
- 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;
- Sobrecarga de inóculo ou falta de inóculo. Placas com inóculos mais carregados podem gerar resultados falsamente positivos e inóculos em menor quantidade podem fornecer 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;
- 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:*

Código – 540165:

Parâmetros	Resultado esperado	
Crescimento presuntivo - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Crescimento de colônias amarelas	Incubação 30-35°C/18-72h Inóculo <100UFC
Propriedade inibitória - <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Sem crescimento	Incubação 30-35°C/72h Inóculo ≥100UFC
Meio não inoculado	Meio sólido claro a ligeiramente opaco, com coloração vermelha a rosa, média a escura, livre de precipitados ou partículas visíveis.	

Cód. 540202:

Parâmetros	Resultado esperado	
Crescimento presuntivo - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crescimento de colônias amarelas	Incubação 30-35°C/48h Inóculo
Propriedade inibitória - <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibição total	Incubação 30-35°C/48h Inóculo
Meio não inoculado	Meio sólido levemente opaco, com coloração avermelhada, livre de precipitados ou partículas visíveis, devendo ter menisco.	

- *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.

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. ANDRADE, Nélcio José de. Higiene na Indústria de Alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. São Paulo, 2008.
2. Brasil. Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2010.
3. Difco Manual, 2nd edition 2009.
4. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1st ed. The International Organization for Standardization, 2014.
5. Guia ABC de Microbiologia – Controle Microbiológico na Indústria de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. 4^o. Ed. São Paulo 2014.
6. 7. SILVA, de Neusely; *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5^a ed. São Paulo: Blucher, 2017.

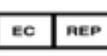
**Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda**

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 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)