

Finalidade:

Meio para isolamento e identificação presuntiva de *Pseudomonas aeruginosa*.

Registro ANVISA:

Não aplicável

Apresentação:

540164 - CETRIMIDE AGAR 20mL PL 90X15 10PL

LB 172286

Rev. 05 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

O ágar Cetrimide (também conhecido por Pseudosel) é utilizado para o isolamento seletivo e diferencial da *Pseudomonas aeruginosa*. Atende às especificações de desempenho da Farmacopéia dos Estados Unidos (USP), Farmacopéia Européia (EP) e Farmacopéia Japonesa (JP). King *et al.* desenvolveu o meio A (Tech Ágar) para o aumento da produção de piocianina pelas *Pseudomonas*. O ágar Cetrimide (Pseudosel) tem a fórmula do Tech Ágar, mas é modificado pela adição de cetrimide (brometo de cetiltrimetilamônio) para a inibição seletiva de outros microrganismos. Em 1951, Lowbury descreveu o uso de 0,1% de cetrimide em um meio seletivo para *P. aeruginosa*. Devido à maior pureza do agente inibidor, a concentração foi posteriormente reduzida, conforme relatado por Lowbury e Collins em 1955. Brown e Lowbury empregaram incubação a 37°C por 18 e 42 horas. As cepas de *P. aeruginosa* são identificadas a partir de amostras pela sua produção de piocianina, um pigmento azul, solúvel em água, não-fluorescente, além de sua morfologia colonial e o odor característico. A *P. aeruginosa* é a única espécie de *Pseudomonas* ou bacilo Gram negativo conhecido por excretar a piocianina. O ágar Cetrimide (Pseudosel), portanto, é um valioso meio de cultura na identificação deste microrganismo, ele é largamente recomendado na análise de cosméticos para a pesquisa de *P. aeruginosa*, bem como para avaliar a eficácia de desinfetantes contra este microrganismo. É também utilizado na análise microbiológica de produtos farmacêuticos não estéreis.

A formulação do Cetrimide Ágar possui digesto pancreático de gelatina que fornece os nutrientes necessários para suportar o crescimento. A produção de piocianina é estimulada pelo cloreto de magnésio e sulfato de potássio no meio. O Cetrimide é um detergente catiônico de amônio quaternário, que é inibidor de uma grande variedade de espécies bacterianas incluindo espécies de *Pseudomonas* que não a *P. aeruginosa*.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/L
Digesto pancreático de gelatina	20,0g
Cloreto de magnésio	1,4g
Sulfato de Potássio	10,0g
Cetrimide (Tetradecyltrimethylammonium Bromide)	0,3g
Agar	13,6g
Água deionizada	1000mL
pH 7,2± 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

- Podem ser utilizados em materiais provenientes de cultura, incluindo amostras de produtos cosméticos e farmacêuticos.
- 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 sua composição pode apresentar até 80% de água, ao sofrer variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) todo meio de cultura pode gerar condensação, de pouco a muita, acumulando água na placa. Recomenda-se guardar as placas com os meios de cultura virados para cima e, quando necessário, desprezar a água acumulada e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura antes de sua utilização.

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, ou secar a água condensada, 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 meio, expor o produto a contaminações ou gerar um acúmulo de água excessivo.

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 a 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 é 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;
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos Detrilab;
- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222, DE 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Bico de Bunsen;
- Alças bacteriológicas.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- Retirar o pacote da refrigeração e, em ambiente asséptico, separar as placas a serem usadas, devolvendo o restante ao refrigerador;
- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura, ou deixar estabilizar/secar em temperatura ambiente;
- Usando procedimentos adequados, proceder a inoculação do material diretamente na superfície do meio;
- Incubar por período de tempo exigido pela técnica adotada.
- Realizar leitura.

7. RESULTADOS

Colônias que são circundadas por um pigmento azul-esverdeado e fluorescem sob a luz ultravioleta pode ser presumivelmente identificadas como *Pseudomonas aeruginosa*. No entanto, certas cepas de *P. aeruginosa* podem não produzir piocianina. Outras espécies de *Pseudomonas* não produzem piocianina, mas fluorescem sob luz UV. A maioria das espécies não-*Pseudomonas* é inibida e algumas espécies de *Pseudomonas* também podem ser inibidas.

Realizar testes bioquímicos e coloração de Gram para confirmação das colônias.

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:

- Ocasionalmente, alguns microrganismos entéricos exibem um ligeiro amarelamento do meio, no entanto, essa coloração é facilmente distinguida da produção de fluoresceína, uma vez que esse amarelamento não fluoresce.
- Alguns não-fermentadores e alguns esporo formadores aeróbicos podem exibir uma pigmentação marrom-bronzeada solúvel em água neste meio.
- As cepas de *Serratia* podem exibir uma pigmentação rosa.
- Estudos de Lowbury e Collins mostraram que *P. aeruginosa* pode perder sua fluorescência sob luz UV se as culturas forem deixadas à temperatura ambiente por um curto período. A fluorescência reaparece quando as placas são reincubadas.
- 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 uma carga bacteriana mais carregada podem fornecer 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.
- 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:*

Cepas	Resultado esperado	
Crescimento presuntivo - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Crescimento de colônias verdes	30-35°C/24 às 72h - Inóculo <100UFC
Propriedade inibitória - <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Sem crescimento	30-35°C/18 às 72h - Inóculo ≥100UFC
Meio não inoculado	Meio sólido levemente opaco, com coloração âmbar clara, podendo apresentar finos precipitados.	

- *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 0800-410027 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

- Difco Manual, 2nd edition 2009.
- Farmacopéia Brasileira, 5ª edição. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2010.
- Guia ABC de Microbiologia – Controle Microbiológico na Indústria de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. 4^o. Ed. São Paulo 2014.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

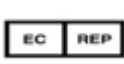
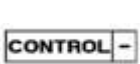
CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone 041 36619000

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 in vitro.
	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)