

Finalidade:

Meio de cultura cromogênico, estéril para isolamento e identificação de *Salmonella* spp.

Registro ANVISA:

10097010167

Apresentação:

540117 - SALMONELLA CROMOGENICO 15mL PL90X15 10PL

LB 172287
Rev 10 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

As Salmonelas 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. A *Salmonella* é um dos principais agentes patogênicos na produção de gastroenterites provocadas pelos alimentos. Por isso, foram desenvolvidos muitos meios diferentes para o isolamento a partir de alimentos e outros materiais.

Segundo a ISO 6579-1:2017, a partir das culturas de enriquecimento inoculam-se dois meios de isolamento seletivos. O primeiro ágar de isolamento utilizado é o XLD e o segundo é escolhido pelo laboratório, desde que seja complementar ao ágar XLD, ou seja, obtenha colônias com diferentes características das obtidas no ágar XLD, para facilitar a detecção, por exemplo, *Salmonella* lactose positiva ou H₂S negativa. Sendo sugerido como um dos meios de escolha o Ágar *Salmonella* Cromogênico.

O Ágar *Salmonella* Cromogênico foi desenvolvido originalmente por A. Rambach, em Paris, França. Este ágar contém substratos cromogênicos onde as colônias de *Salmonella* spp ficam na cor magenta. Outros substratos cromogênicos fazem uma coloração azul-verde na maioria dos microrganismos que não são da espécie *Salmonella*. As espécies que não reagem com qualquer um dos substratos cromogênicos irão aparecer na cor natural da sua colônia (incolores a cinzento). Devido aos agentes inibitórios incluídos no meio, muitas bactérias que não *Salmonella* são inibidas.

No Ágar *Salmonella* Cromogênico habitualmente, os microrganismos Gram positivos e fungos são inibidos em consequência da base do meio seletivo. São utilizados outros agentes inibidores para reduzir o crescimento de bactérias Gram negativas, não fermentadoras de glicose e de espécies de *Proteus*, que poderão potencialmente superar o crescimento das colônias de *Salmonella*. No meio, estão incluídos cromógenos selecionados, que devido a diferenças metabólicas, produzem colônias para espécies de *Salmonella* de cor magenta, enquanto que as bactérias indesejadas são inibidas ou produzem colônias azul-esverdeadas ou incolores.

2. COMPOSIÇÃO

Salmonella Cromogênico

Formulação	Concentração/L
Cromopeptona	22,0g
Mistura cromogênica	0,34g
Inibidores	8mg
Ágar	15,0 g
pH 7,6± 0,2 a 25°C	

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

3. AMOSTRAS

a- Tipos de amostras

- As amostras devem ser enriquecidas seletivamente em meio apropriado (Tetrationsato, Rappaport, Muller Kauffmann ou Selenito) antes de sua inoculação;
- 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 emeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS DO 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 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.

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 (±37°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. MATERIAL NECESSÁRIO (porém não fornecido)

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

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

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

7. RESULTADOS

- Havendo crescimento, analisar o desenvolvimento de cor no meio, verificando a presença de colônias de coloração magenta indica a presença de *Salmonella* spp.
- Devendo, por tanto, ser realizada confirmação bioquímica conforme metodologia estabelecida pelo laboratório.

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;
- Exposição e incubação da placa a temperaturas elevadas. Os substratos cromogênicos podem ser decompostos e/ou inativados;
- 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
- A placa fornece identificação presuntiva para *Salmonella*. A identificação definitiva das espécies bacterianas isoladas deverá ser efetivada com o uso de sistemas mais sensíveis como o sistema Bactray. Para tanto, as colônias devem estar bem isoladas.

9. CONTROLE DE QUALIDADE

- *Materiais necessários*

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

- *Controle de qualidade recomendado:*

Parâmetro	Resultado esperado	
Produtividade qualitativa – <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	Crescimento bom - Colônias magentas	Incubação 33-37°C/ 24h
Produtividade qualitativa – <i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	Crescimento bom - Colônias de cor magenta	Incubação 33-37°C/ 24h
Seletividade qualitativa – <i>E. coli</i> ATCC 25922	Inibição total a parcial (colônias azuis)	Incubação 33-37°C/ 24h

Seletividade qualitativa - <i>P. mirabilis</i> ATCC 25933	Inibição total a parcial	Incubação 33-37°C/ 24h
Meio não inoculado	Meio de coloração ambar claro, ligeiramente opalescente, com pequeníssimos 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 em condições adequadas;
 - 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 até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos junto ao site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou outras informações, contatar 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 BIBLIOGRÁFICAS

- Difco Manual, 2th edition 2009.
- 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.
- ISO 6579. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp. 1th ed. The International Organization for Standardization, 2017.
- SILVA, de Neusely; *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5^a ed. São Paulo: Blucher, 2017.

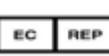
**Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda**

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