



## ÁGAR SAL MANITOL

### **USO**

O Ágar Sal Manitol é usado para o isolamento seletivo, detecção e contagem de estafilococos patogênicos presentes no leite, produtos a base de carne, peixe e frutos do mar, outros produtos alimentícios, farmacêuticos, cosméticos, e amostras biológicas de origem animal. Ele é também utilizado em exame bacteriológico de água de piscinas, spas e água potável usada em filtração por membrana.

### **HISTÓRIA**

Os experimentos de Koch mostraram que os estafilococos podiam tolerar meios hipersalinos a 7,5%. Chapman confirmou estes resultados iniciais e observou que os estafilococos que coagulavam plasma de coelho formavam colônias amarelas neste meio, enquanto muitas outras bactérias foram inibidas.

### **PRINCÍPIOS**

- A alta concentração de cloreto de sódio inibe o crescimento da maior parte das bactérias exceto os estafilococos.
- A fermentação do manitol, mostrada pela mudança da cor do indicador de pH (vermelho de fenol) para amarelo orienta o diagnóstico.
- A demonstração de estafilococos patogênicos é confirmada por um teste de coagulase e, opcionalmente, pelos testes de desoxirribonuclease e fosfatase.

### **PREPARAÇÃO**

- Suspender 111,0 g do meio desidratado (BK030) em 1 litro de água destilada ou deionizada.
- Levar lentamente a ebulição, com agitação constante até dissolução completa.
- Dispensar em tubos ou frascos.
- Esterilizar em um autoclave a 121°C por 15 minutos.

### **ATENÇÃO:**

A incompleta fusão do ágar durante a preparação poderá levar a uma significativa inconsistência na formação do gel do agar solidificado, após esterilização e resfriamento.

## **INSTRUÇÕES PARA USO**

### **Uso geral:**

- Derreter o meio (se preparado com antecedência).
- Resfriar e manter entre 44-47°C.
- Despejar em placas de Petri estéreis.
- Deixar solidificar sobre uma superfície fria.
- Secar em uma incubadora com as tampas parcialmente removidas.
- Transferir 0,1 mL do produto a ser analisado e suas diluições seriadas em decuplicata para as placas de Petri.
- Espalhar o inóculo sobre a superfície do meio com uma alça estéril.
- Incubar a 37°C por 24 e 48 horas.

### **Análise de água:**

- Derreter o meio (se preparado com antecedência).
- Resfriar e manter entre 44-47°C.
- Despejar em placas de Petri estéreis (a espessura do ágar deve ser de pelo menos 5 mm).
- Deixar solidificar sobre uma superfície fria.
- Assepticamente filtrar o volume apropriado de água através de uma membrana de nitrocelulose.
- Coloque a membrana, com o lado filtrado para cima, sobre a superfície do ágar preparado como descrito anteriormente (ou usar placas prontas para uso BM085), garantindo um contato total. As placas de ágar devem ser deixadas a temperatura ambiente antes da manipulação.
- Incubar a (36 ± 2)°C por (44 ± 4) horas.

## **RESULTADOS**

Estafilococos patogênicos formam luxuriantes colônias pigmentadas, rodeadas por um anel amarelo devido a fermentação do manitol. Estafilococos não-patogênicos geralmente dão origem a pequenas colônias vermelhas que não mudam a cor do meio. Diversas cepas de *Staphylococcus epidermidis* podem fermentar o manitol. Após 48 horas de incubação, várias cepas de enterococos, *Bacillus*, micrococos e *Serratia* podem crescer.

## **COMPOSIÇÃO TÍPICA**

(pode ser ajustada para se obter um melhor desempenho)

Para 1 litro de meio:

- Triptona.....	5,0 g
- Peptona Péptica de carne.....	5,0 g
- Extrato de carne.....	1,0 g
- Manitol.....	10,0 g
- Cloreto de sódio.....	75,0 g
- Vermelho de fenol.....	25,0 mg
- Ágar Bacteriológico.....	15,0 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 7,4 ± 0,2.

## **CONTROLE DE QUALIDADE**

- Meio desidratado: pó rosado, de fluxo livre e homogêneo.
- Meio preparado: ágar vermelho.
- Típica resposta da cultura após 24-48 horas de incubação a 37°C (XP CEN ISO/TS 11133-2):

Microrganismos		Crescimento (Índice de Produtividade: $P_R$ )	Características
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 6538	$P_R \geq 50\%$	colônias amarelas rodeadas por um halo amarelo
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	$P_R \geq 50\%$	colônias amarelas rodeadas por um halo amarelo
<sup>(1)</sup> <i>Staphylococcus aureus</i>	CIP 53.154	$66\% \leq R_3 \leq 150\%$	colônias amarelas rodeadas por um halo amarelo
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228	bom, valor 2	colônias rosa rodeadas por uma zona vermelha
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	inibido, valor 0	
<sup>(1)</sup> <i>Enterococcus faecalis</i>	CCM 2541	inibido	

<sup>(1)</sup>48 horas de incubação de acordo com NF T90-461; Índice de Produtividade:  $R_3$

## **ESTOCAGEM / SHELF LIFE**

**Meio desidratado:** 2-30°C.

- A data de validade está indicada na etiqueta.

**Meio preparado** (valor de referência\*):

- Meio em frascos: 6 meses entre 2-8°C.
- Meio em placas: 1 mês entre 2-8°C.

**Meio pré-vazado em placas:**

- Armazenar entre 2 – 8°C, ao abrigo da luz.
- A data de validade está indicada na etiqueta.

## **EMBALAGEM**

Código

**Meio desidratado:**

- Frasco de 500 g BK030HA

**Meio pré-vazado em placas de Petri (Ø 55 mm):**

- 20 placas BM14808

## **BIBLIOGRAFIA**

- Chapman, G.H. 1945. The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. *J. Bacteriol.*, **50**: 201.
- Chapman, G.H. 1948. An improved Stone medium for the isolation and testing of food poisonning *staphylococci*. *Food Research*, **13**: 100-105.
- Journal Officiel du 21 septembre 1968. Méthodes officielles de prélèvement et d'analyse bactériologiques des glaces et crèmes glacées. (arrêté du 30 août 1968).
- XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.
- NF T 90-461. Juillet 2001 et NF T 90-461/A1. Juin 2005. Qualité de l'eau. Microbiologie. Contrôle qualité des milieux de culture.
- United States Pharmacopeia 29. 2006. Microbial Limit Tests, 2503-2508.
- ISO 22718. Février 2006. Cosmétiques. Microbiologie. Détection de *Staphylococcus aureus*.
- XP T 90-412. Juin 2006. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des staphylocoques pathogènes. Méthode par filtration sur membrane.
- NF T 90-421. Août 2006. Essais des eaux. Examens bactériologiques des eaux de piscines.

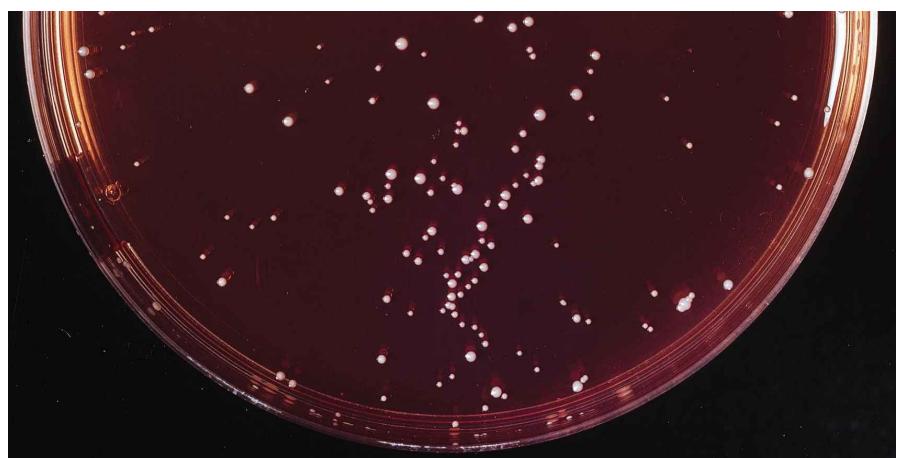
## **FOTO ILUSTRATIVA**

**Referência do produto:** BK030HA; BM14808

**Meio usado para:** Isolamento seletivo, detecção e contagem de *Staphylococci* patogênicos.



Esquerda: *Staphylococcus aureus*



Direita: *Staphylococcus epidermidis*

### **Ágar Sal Manitol (Chapman)**

Ref: BK030HA

Incubação: 24 horas / 37°C

Características: *Staphylococcus aureus* (superior esquerdo): Colônias amarelas rodeadas por um halo amarelo

(indicando a fermentação do manitol);

*S. epidermidis* (inferior direito): Colônias brancas rodeadas por um halo vermelho (sem fermentação do manitol)

\*O valor de referência corresponde à vida de prateleira esperada quando preparados sob condições laboratoriais normais, seguindo as instruções do fabricante. É fornecido apenas como guia e sem garantia, expressa ou implícita associada com esta informação.

As informações fornecidas na embalagem procedem de formulações ou instruções descritas neste documento.

As informações e especificações contidas nesta ficha técnica datam de 16/04/2009.

Elas estão sujeitas a alterações a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: BK030/A/2000-09: 8.