



CALDO GIOLITTI & CANTONI COM TWEEN 80 (BASE)

ENRIQUECIMENTO E ENUMERAÇÃO DE ESTAFILOCOCOS POSITIVOS PARA COAGULASE

USO

O caldo Giolitti e Cantoni com Tween 80 é um meio de enriquecimento seletivo para a detecção e enumeração (particularmente em baixo número) de estafilococos coagulase positiva em produtos alimentícios. O meio é usado com o método MPN.

A composição típica corresponde à definida na norma NF EN ISO 6888-3.

HISTÓRIA

Mossel, Harrewijn e Elzebrock recomendaram o meio formulado por Giolitti e Cantoni em 1966 para a detecção de *Staphylococcus aureus* em leite em pó e fórmulas infantis. A presente fórmula, complementada com Tween 80, foi recomendada por Chopin *et al.* (em 1985) para aumentar a produtividade do meio.

PRINCÍPIOS

Piruvato, glicina e especialmente manitol favorecem o desenvolvimento de estafilococos.

As bactérias gram-negativas são inibidas pelo cloreto de lítio.

Cepas gram-positivas são inibidas pela ação do telurito de potássio.

O ambiente anaeróbico suprime o crescimento de micrococcos.

Tween 80 atua como um agente de dispersão.

O desenvolvimento de estafilococos é demonstrado pelo aparecimento de uma coloração preta devido à redução do telurito a telúrio metálico.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter o desempenho ideal).

Para 1 litro de meio base (sem telurito de potássio):

- Triptona	10,0 g
- Extrato de carne	5,0 g
- Extrato de levedura	5,0 g
- Glicina	1,2 g
- Manitol	20,0 g
- Piruvato de sódio	3,0 g
- Cloreto de sódio	5,0 g
- Cloreto de lítio	5,0 g



- Tween 80 1,0 g
- Telurito de potássio (*) 0,1 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 6,9 ± 0,2.

(*): O telurito de potássio não está incluso na composição do meio base e deve ser adicionado imediatamente antes da inoculação.

PREPARAÇÃO

Preparação da solução de telurito de potássio:

- Suspender 1 g de telurito de potássio em 100 mL de água destilada ou desmineralizada.
- Agitar até a dissolução completa.
- Filtrar através de uma membrana de 0,22 µm e recuperar a solução em um frasco estéril.

Preparação dos meios em concentração única:

- Dissolver 55,2 g de meio desidratado (BK159) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Deixar ferver lentamente, com agitação constante até a dissolução completa.
- Dispensar 10 mL por tubo de 16 x 160 mm.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar até temperatura ambiente.

- ✓ **Reconstituição**
55,2 g/L.
- ✓ **Esterilização:**
15 min a 121°C

Preparação dos meios em dupla concentração:

- Para dupla concentração, dissolver 110,4 g de meio desidratado (BK159) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Deixar ferver lentamente, com agitação constante até a dissolução completa.
- Dispensar 10 mL por tubo de 20 x 200 mm.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar até temperatura ambiente.

- ✓ **Reconstituição**
110,4 g/L.
- ✓ **Esterilização:**
15 min a 121°C

Uso de meio pronto para uso:

- Quando o meio tiver sido preparado com antecedência ou quando o meio estiver pronto para uso (BM110 e BM111), degaseificar o meio básico (de concentração única ou dupla) antes do uso, aquecendo por 15 minutos a 95-100°C, imediatamente antes do uso.
- Resfriar e manter em temperatura ambiente.



Preparação de sobreposição de ágar:

- Dissolver 15 a 20 g de ágar-ágar (A1010 ou A1012) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Levar lentamente à ebulição, mexendo com agitação constante até a dissolução completa.
- Dispensar em tubos ou frascos.
- Autoclavar por 15 minutos a 121°C.
- Resfriar e manter o meio a 44-47°C.

INSTRUÇÕES DE USO

Meio de dupla concentração:

- Adicionar a cada tubo 0,2 mL da solução estéril de telurito de potássio a 1%.
- Transferir 10 mL de inóculo para cada tubo de meio de dupla concentração.

Meio de concentração única:

- Adicionar a cada tubo 0,1 mL da solução estéril de telurito de potássio a 1%.
- Transferir 1 mL de inóculo e suas diluições seriadas para cada tubo de meio de concentração única.
- Misturar bem, evitar formar bolhas de ar.
- Despejar uma camada de ágar estéril (44-47°C) nos tubos;
- Deixar esfriar e incubar por 24 horas a 37°C.
- Se os tubos não apresentarem escurecimento ou precipitação em 24 horas, prolongar a incubação por mais 24 horas.

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">✓ <u>Inoculação</u><ul style="list-style-type: none">- Adicionar telurito- Concentração única: 1 mL- Dupla concentração: 10 mL✓ <u>Incubação:</u><ul style="list-style-type: none">24 a 48 h a 37°C |
|--|

RESULTADOS

Inocule os tubos demonstrando escurecimento ou precipitado preto após as 24 horas de incubação em ágar Baird-Paker com telurito de gema de ovo (BM018) ou em placas Baird Parker RPF preparadas (BM067).

Após 48 horas de incubação, reinocular todos os outros tubos.

Todas as placas devem ser incubadas durante 48 horas a 37°C.

A presença de colônias características confirma a presença de estafilococos coagulase positiva nos tubos.

Calcule o número mais provável ou a presença do microrganismo específico.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meios desidratados: pó bege claro e homogêneo.



Meios preparados: solução âmbar e límpida.

Resultado do cultivo após 48 horas de incubação em condições anaeróbicas a 37 °C, seguida de subcultura de acordo com NF EM ISO 11133:

Microrganismos	Crescimento
<i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034 + <i>Escherichia coli</i> WDCM 00013	> 10 colônias características
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	Inibido

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio base desidratado: 2-30°C.

Meio base pronto para uso (concentração única e dupla) em tubos: 2-8°C.

As datas de validade estão indicadas nos rótulos.

Meios base preparados em tubos (*): 180 dias a 2-8°C.

Meios completos preparados em tubos com telurito (*): usar no dia do preparo.

(*) Valor de referência determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

EMBALAGEM

Meio base desidratado (sem telurito de potássio):

Garrafa de 500 gBK159HA

Meio base pronto para uso (sem telurito de potássio):

Tubos de 50 x 10 mL (meios de concentração única)BM11008

Tubos de 50 x 10 mL (meios de dupla concentração)BM11108

Ágar tipo americano:

Garrafa de 500 gA1010HA

Ágar tipo europeu:

Garrafa de 500 gA1012HA



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Giolitti, G., and Cantoni, C.. 1966. A medium for the isolation of staphylococci from foodstuffs. *Journal of Applied Bacteriology*, 29: 395-398.

NF EN ISO 6888-3. Juin 2003. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). Partie 3: Recherche et méthode NPP pour les faibles nombres.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

As informações fornecidas nos rótulos têm precedência sobre as formulações ou instruções descritas neste documento e são suscetíveis de modificação a qualquer momento, sem aviso prévio.

Código do documento: GIOLITTI & CANTONI_ENV9.

Data de criação: 01- 2004.

Data de revisão: 05 – 2016.

Motivo da revisão: Revisão geral.