



CALDO DE SOJA MODIFICADO COM TRIPTO-CASEÍNA (MTSB)

DETECÇÃO DE *ESCHERICHIA COLI* O157

USO

O Caldo Triptona de Soja Modificado (mTSB) é um meio de enriquecimento destinado à detecção de sorotipos patogênicos de *Escherichia coli*, em particular o sorotipo O157:H7, em produtos alimentícios e outras amostras potencialmente contaminadas de origem animal.

A composição típica do caldo corresponde à definida na norma internacional ISO 16654.

HISTÓRIA

O sorotipo O157 de *Escherichia coli* é um sorotipo patogênico, identificado pela primeira vez em 1982 como o agente responsável pela colite hemorrágica. As matérias-primas infectadas parecem ser a principal fonte de contaminação humana. Carne bovina e suína, aves e certos leites não pasteurizados foram incriminados em toxi-infecções ligadas a *Escherichia coli* O157. Este microrganismo também pode ser isolado de batatas, cidra e água da torneira.

Muitos autores utilizaram com sucesso o caldo triptona de soja modificado para o enriquecimento seletivo de *Escherichia coli* O157:H7. A fórmula base do caldo triptona de soja foi originalmente modificada pela adição de 1,5 g/L de fosfato dipotássico e 1,5 g/L de sais biliares. Em 1987, Doyle *et al.* propuseram a adição de 20 mg/L de novobiocina para reforçar a seletividade e para aumentar a detecção de *Escherichia coli* O157:H7.

PRINCÍPIOS

A base de nutrientes que combina triptona, digestão papaica de farelo de soja e glicose fornece um crescimento ideal de *Escherichia coli* O157:H7.

A presença combinada de sais biliares e novobiocina garante a inibição de microrganismos gram positivos e certos microrganismos gram negativos, como *Proteus*.

O fosfato dipotássico mantém o pH e assim aumenta a capacidade de recuperação.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

A composição pode ser ajustada para obter o desempenho ideal.

Para 1 litro de meio completo:

- Triptona.....	17,0 g
- Digestão papaica de farelo de soja.....	3,0 g
- Glicose.....	2,5 g
- Sais biliares nº 3.....	1,5 g
- Cloreto de sódio.....	5,0 g

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B. P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – França

Tel: + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax: + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.com



- Fosfato dipotássico.....4,0 g
- Novobiocina.....20,0 mg

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

Para 33 g de meio base desidratado BK150

- Triptona.....17,0 g
- Digestão papaica de farelo de soja.....3,0 g
- Glicose.....2,5 g
- Sais biliares nº 3.....1,5 g
- Cloreto de sódio.....5,0 g
- Fosfato dipotássico.....4,0 g

Para um frasco de suplemento BS056

- Novobiocina.....40 mg

Para um frasco de suplemento BS033

- Novobiocina.....10 mg

PREPARAÇÃO

Preparação de meios desidratados

- Dissolver 33,0 g de meio desidratado (BK150) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada;
- Mexer lentamente, até a dissolução completa;
- Dispensar em frascos, 225 mL por frasco;
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos;
- Resfriar até temperatura ambiente;
- Reconstituir o suplemento seletivo Novobiocina 40 mg (BS056) com 20 mL de água destilada estéril ou o suplemento seletivo Novobiocina 10 mg (BS033) com 5 mL;
- Misturar ou agitar em vórtex para garantir a homogeneização completa, evitando a formação de espuma;
- Adicionar asepticamente 2,25 mL de suplemento reconstituído por frasco de 225 mL, ou 0,9 mL por frasco de 90 mL;
- Homogeneizar completamente.

✓ **Reconstituição:**
33,0 g/L

✓ **Esterilização:**
15 min a 121°C

✓ **Suplementar a reidratação:**

20 mL de água estéril + BS056
5 mL de água estéril + BS033

✓ **Adicionar à base:**
2,25 mL / 225 mL

INSTRUÇÕES DE USO

- Adicionar asepticamente X g de produto para testar por frasco de 9X mL de caldo;
- Misturar bem;
- Incubar a 41,5 ± 1°C por 6 horas e novamente por 12 a 18 horas.

✓ **Inoculação:**
1 : 10

✓ **Incubação:**
6 a 24 h a 41,5°C

RESULTADOS

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B. P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – França
Tel: + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax: + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.com



- Após 6 horas de incubação, remover assepticamente uma alíquota da cultura e realizar a separação imunomagnética, seguindo de isolamento em ágar CT-SMAC (BK150);
- Prolongar a incubação por 12 a 18 horas adicionais. Repetir a separação imunomagnética, seguida de isolamento em ágar CT-SMAC.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meios desidratados: pó branco creme, de fluxo livre e homogêneo.

Suplementos Seletivos de Novobiocina: grânulo branco, após reconstituição dá origem a uma solução límpida e incolor.

Meios preparados (completos): âmbar, solução límpida.

Resposta típica da cultura após 24 horas de incubação a 41,5°C, seguida de subcultura em ágar CT-SMAC:

Microrganismos		Crescimento
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	WDCM 00014	> 10 colônias características
+ <i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	
+ <i>Proteus mirabilis</i>	WDCM 00023	
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	NCTC 13126	> 10 colônias características
+ <i>Enterobacter aerogenes</i>	WDCM 000175	
+ <i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inibido
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inibido
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	

ARMAZENAMENTO / CONSERVAÇÃO

Meio base desidratado: 2-30°C.

Suplementos Seletivos de Novobiocina: 2-8°C.

As datas de validade estão indicadas nos rótulos.

Suplemento de Novobiocina Reidratado (*): 30 dias a 2-8°C.

Meio base preparado em frascos (*): 180 dias a 2-8°C.

Meios completos preparados em frascos (*): 30 dias a 2-8°C.

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



EMBALAGEM

Meio base desidratado (sem Novobiocina):

Garrafa de 500 g.....BK150HA

Suplemento Seletivo de Novobiocina:

8 frascos de 40 mg.....BS05608

10 frascos de 10 mg.....BS03308

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Doyle, M.P., and J.L. Schoeni. 1987. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl. Envir. Microbiol.* 53: 2394-2396.

Feldsine, P.T., M.T. Falbo-Nelson, S.L. Brunelle, and R.L. Forgey. 1997. Assurance Enzyme Immunoassay for the Detection of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Selected Foods: Collaborative Study. *Journal of AOAC International.* 80: 530-543.

NF EN ISO 16654. Juillet 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157.

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: mTSB BROTH_ENV7.

Data de criação: 09 – 2001.

Data de revisão: 09 – 2018.

Motivo da revisão: Suplemento de reconstituição.