

Finalidade:

Meio seletivo e diferencial para isolamento presuntivo de *Bacillus cereus*.

Registro ANVISA:

100.970.10-134

Apresentação:

540168- MYP-AGAR-B. CEREUS-20mL-PL 90X15-10PL

LB 172175
Rev 05 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

O Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) foi formulado para isolamento e enumeração de *Bacillus cereus* em amostras de alimentos. Este meio diferencia *B. cereus* de outras bactérias com base em sua resistência à polimixina, falta de fermentação de manitol e presença de lecitinase.

O *B. cereus* é comumente encontrado na natureza, em vegetais e em alguns alimentos processados. Sob circunstâncias favoráveis o microrganismo cresce em número suficiente para causar doença gastrointestinal. Surto de doenças transmitidas por alimentos têm sido associado com arroz, carnes e legumes cozidos. Microrganismos que fermentam o manitol produzem ácido e formam colônias amarelas, o *B. cereus* não fermenta o manitol e esta característica auxilia a distinguir o *B. cereus* de outros microrganismos contaminantes que fermentam o manitol. O *B. cereus* produz lecitinase, que hidrolisa a lecitina e apresentando ao redor da colônia um halo de precipitação de coloração rósea leitosa, devido à reação com a gema de ovo. As colônias são facilmente reconhecidas, por serem grandes (2 a 7 mm em diâmetro), planas, variando na forma circulares a irregulares, com bordas lisas ou onduladas. A textura geralmente é granular, embora colônias lisas e úmidas não sejam incomuns.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/ L
Extrato de carne	1,0g
Peptona	10,0g
D-Manitol	10,0g
Cloreto de sódio	10,0g
Vermelho de fenol	25,0mg
Ágar	15,0g
Solução de sulfato de polimixina B 10.000 IU/mL	10mL
Emulsão gema de ovo: salina (1:1)	100mL
Água deionizada	1L

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

3. AMOSTRAS**a- Tipos de amostras**

- Amostras de alimentos.

- 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 à 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 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;
- Alças de Drigalsky;
- Bico de Bunsen;

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- Retirar o pacote de placas da geladeira e separar as placas a serem usadas, retornando o pacote à geladeira;
- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura;
- Semear o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório referentes ao acondicionamento, preparo e diluições;
- Espalhar cuidadosamente o inóculo o mais rapidamente possível;
- Incubar por período e temperatura exigido pela técnica adotada.
- Seguir a técnica de contagem e identificação conforme critério adotado pelo laboratório.

7. RESULTADOS

- As colônias de *B.cereus* são grandes, com coloração róseo-avermelhadas, com halo opaco ao redor das colônias devido à presença de lecitinase.
- O MYP fornece uma identificação presuntiva de *B.cereus*. Ocorrendo o desenvolvimento de colônias características realizar a confirmação por provas bioquímicas 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:

- O desenvolvimento de colônias com as características típicas no MYP Ágar não é confirmatório. A identificação das colônias que se desenvolverem neste meio deve ser realizada por provas bioquímicas referenciadas.
- 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 DE QUALIDADE

- *Materiais necessários*

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

- Controle de qualidade recomendado:

Parâmetros	Resultado esperado	
Produtividade qualitativa - <i>B. cereus</i> ATCC 11778	Colônias róseas com halo de precipitação	Incubação 30-35°C 24-48h
Especificidade qualitativa - <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	Colônias amarelas sem halo de precipitação	Incubação 30-35°C 24-48h
Seletividade qualitativa – <i>E.coli</i> ATCC 25922	Inibição total	Incubação 30-35°C 24-48h
Meio não inoculado	Meio de cultura com coloração alaranjada, livre de precipitados.	

- *Periodicidade*

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

- *Análise dos resultados*

O meio MYP Ágar testado com cepas padrão deve expressar os resultados esperados. Caso se constate algum problema, os resultados 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 0800-0410027 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

- APHA: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.. 2015.
- Difco Manual, edition 2009.
- ISO 7932. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* - Colony-count technique at 30°C. The International Organization for Standardization, 2004.
- ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1ª ed. The International Organization for Standardization, 2014.
- SILVA, de Neusely; *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2017.

12. PRODUTOS RELACIONADOS

- 530168 ÁGUA PEPTONADA-0,1%-225mL-CX 10FR
- 510150 ÁGUA PEPTONADA-0,1%-9mL-TB16X150-CX 10TB
- 540204 SANGUE-AGAR-SEG.ISO-20mL-PL 90X15-PC10PL



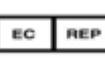
Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

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)