

Finalidade:

Meio de cultura líquido, utilizado para o enriquecimento seletivo de amostras nas quais se deseja recuperar *Salmonella* spp, em alimentos.

Registro ANVISA:

Não Aplicável

Apresentação:

510160 - RAPPAPORT VASS SOJA 10mL TB16X150 CX10TB

LB 172231
Rev. 03 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

O Caldo Rappaport Vassiliadis é utilizado para o enriquecimento seletivo de salmonelas em carne, produtos lácteos e água contaminada.

O meio de enriquecimento para *Salmonella*, formulado por Rappaport *et al.*, foi modificado por Vassiliadis *et al.* A formulação de Rappaport, designada R25/37°C, recomendou a incubação a 37°C, já a modificação de Vassiliadis, designada R10/43°C, apresentou um nível reduzido de verde de malaquita e recomendou a incubação a 43°C. Trabalhos posteriores de Peterz mostraram que a incubação a 41,5°C±0,5°C/24 horas melhorou a recuperação da *Salmonella* spp. O Caldo Rappaport Vassiliadis é um meio de enriquecimento seletivo que é usado após o pré-enriquecimento da amostra em um meio adequado. Obteve aprovação para uso na análise de leite e produtos lácteos, alimentos crus, alimentos altamente contaminados e alimentos para animais.

Este meio enriquece seletivamente as salmonelas porque as bactérias, incluindo outras bactérias intestinais, são tipicamente inibidas pelo verde de malaquita, alta pressão osmótica e/ou baixo pH. *Salmonella typhi* e *Salmonella paratyphi A*, são sensíveis ao verde malaquita e podem ser inibidas.

O Caldo Rappaport Vassiliadis contém peptona como fonte de carbono e nitrogênio para necessidades gerais de crescimento. O cloreto de magnésio aumenta a pressão osmótica no meio. O verde malaquita é inibidor de microrganismos que não sejam salmonelas.

O pH baixo do meio, combinado com a presença de cloreto de magnésio e verde de malaquita, ajudam a selecionar a *Salmonella* spp altamente resistente.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/ L
Digesto Enzimático de Soja	5,0
Cloreto de Sódio	8,0g
Fosfato monopotássico	1,4
Fosfato dipotássico	0,2g
Cloreto de Magnésio Hexahidratado	40g
Verde Malaquita	40mg
pH 5,2± 0,2 a 20°C a 25°C	

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho do produto.

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras

- Amostras de alimentos ou outras amostras que se deseje pesquisar *Salmonella* spp.
- 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 os tubos devem ser armazenados 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.

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de tubos que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, 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 produto ou expor o produto a contaminações.

b- Precauções e cuidados especiais

- 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 tubos com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor;
- 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;
- O procedimento de descarte do produto se baseia na RDC 222 (ANVISA) de 28 de março de 2018, que regulamenta as boas práticas de gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde.
- Para acondicionamento do material a ser autoclavado, recomendamos o uso dos sacos para autoclavagem - DetriLab.
- Contate o serviço de vigilância sanitária de sua região para garantir o cumprimento correto da legislação de descarte de produtos potencialmente contaminantes.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Micropipeta;
- Ponteiras estéreis;
- Bico de Bunsen;

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- a- Retirar da embalagem a quantidade de tubos a ser usada (devolver o restante à geladeira) e colocar os mesmos em estufa bacteriológica a 35-37°C até adquirirem esta temperatura;
- b- Retirar os tubos da estufa e identificar;
- c- Inocular o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório;

- d- Incubar por período exigido pela técnica adotada;
e- Prosseguir análise de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório.

7. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(*Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023*)

Os resultados falsamente positivos ou negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Os caldos de enriquecimento não devem ser usados como única fonte de isolamento. Estes devem ser utilizados conjuntamente com meios seletivos e não seletivos para aumentar a probabilidade de se isolar os patógenos, especialmente quando presentes em pequenas quantidades.
- O crescimento bacteriano depende de particularidades individuais de cada microrganismo. É, portanto, possível que certas cepas que tenham requisitos específicos (substrato, temperatura, condições de incubação diferenciadas) podem não se desenvolver.
- Tempo diferente do preconizado. Incubação por período de tempo mais curto (inferior ao período de 18 horas) não se garante a recuperação dos micro-organismos alvo e a não seletividade referente à possível flora presente.
- Incubação em temperatura inadequada.
- Técnica de assepsia inadequada.
- 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.

8. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

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

- Controle de qualidade recomendado:

Parâmetros	Resultado esperado	
Produtividade qualitativa - <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	Crescimento em agar XLD Inóculo de volume de 0,01 mL	30-35°C/18-24h Inóculo ≤ 100 UFC
Propriedade inibitória - <i>S. aureus</i> ATCC 6538	Sem crescimento em Agar TSA Inóculo de volume de 0,01 mL	30-35°C/18-24h Inóculo ≥ 100 UFC
Meio não inoculado	Meio líquido, azul, límpido, livre de precipitados ou partículas visíveis.	

- *Periodicidade*

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

- *Análise dos resultados*

Os tubos de Caldo Rapport Vassiliadis testados com cepas padrão devem expressar os resultados esperados. Caso se constate algum problema, os resultados de amostras não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

9. 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.

10. REFERÊNCIAS

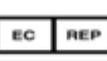
1. APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.
2. Difco Manual, edition 2009.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.
4. SILVA, de Neusely; *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5^a ed. São Paulo: Blucher, 2017.
5. ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1st ed. The International Organization for Standardization.
6. 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 (41) 3661-9000
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)