



PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE (Opcional)

I INTRODUÇÃO

O Selenite-F Broth é um meio enriquecido para o isolamento de *Salmonella* e de algumas espécies de *Shigella*.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Através da utilização de pipetas descartáveis esterilizadas de 1,0 mL, inocule tubos com 1,0 mL de culturas em **Trypticase Soy Broth** com 18 a 24 h de *Salmonella* Typhimurium e *Shigella sonnei* diluídas de forma a conterem 10^2 – 10^3 CFU/mL.
 - b. Para cada um dos tubos inoculados conforme descrito acima, adicione 1,0 mL de uma cultura de *Escherichia coli* em TBS com 18- a 24-h diluída de forma a conter 10^2 – 10^3 CFU/mL. Um tubo não inoculado de Selenite-F Broth é incluído na repicagem e incubação como um controlo do crescimento.
 - c. Misture bem todos os tubos no vortex.
2. Incube todos os tubos com tampas soltas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ numa atmosfera aeróbia durante 18–24 h. Após a incubação, misture os tubos em vortex e inocule as placas de Ágar MacConkey II com uma ansa a partir de cada um dos tubos.
3. Incube as placas de Ágar MacConkey II a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18–24 h numa atmosfera aeróbia. Examine as placas de Ágar MacConkey II, verificando o nível de crescimento dos microorganismos lactose-positivos (colónias cor-de-rosa) e lactose-negativos (colónias incolores).
4. Resultados esperados

Microorganismos de controlo do CLSI (Estirpes ATCC)

Isolamento em Ágar MacConkey II

* <i>Salmonella enterica</i> subespécie <i>enterica</i> serótipo Typhimurium (14028)	Crescimento moderado a intenso de colónias incolores
* <i>Shigella sonnei</i> (9290)	Crescimento moderado a intenso de colónias incolores
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Inibição parcial a completa (colónias cor-de-rosa)

NOTA: O controlo do crescimento não apresenta sinais de crescimento nas placas de MacConkey II Agar.

*Estirpe do microorganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos, conforme descrito na secção "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos, para assegurar que eventuais defeitos físicos não irão interferir com a utilização.
3. Determine o pH, através de potenciometria, à temperatura ambiente, para cumprimento da especificação de pH de $7,0 \pm 0,2$.
4. Incube os tubos representativos não inoculados entre 20 a 25°C e 30 a 35°C , e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Selenite-F Broth (Meio líquido Selenite-F) é utilizado como um meio enriquecido para isolamento de *Salmonella* em fezes, urina, água, alimentos e outros materiais importantes a nível sanitário.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

O Selenite-F Broth foi criado por Leifson¹, que demonstrou que a selenite inibe o crescimento de coliformes e de outras espécies microbianas, tais como os estreptococos fecais, presentes em amostras fecais, sendo assim benéfico para o isolamento de espécies de *Salmonella*. Descobriu que as estirpes inibidas conseguiam, eventualmente, crescer, mas se fossem efectuadas repicagens a partir do meio líquido enriquecido após 8 a 12 h de incubação, era possível isolar a *Salmonella* sem que ocorresse um crescimento excessivo de outras bactérias da flora intestinal.

Os meios enriquecidos são utilizados por rotina para detecção de agentes patogénicos em amostras fecais, uma vez que, normalmente, estes agentes representam apenas uma pequena percentagem da flora intestinal. O Selenite-F Broth e o meio relacionado, Selenite Cystine Broth, são recomendados para o isolamento de *Salmonella*, com execução de repicagens após 12 a 18 h de incubação. Para a detecção de *Shigella*, o GN Broth é um meio enriquecido satisfatório.² O Campylobacter Thioglycollate Medium with 5 Antimicrobics é recomendado quando houver suspeita da existência de *Campylobacter jejuni* nas amostras e seja esperado um número reduzido de microrganismos devido ao atraso no transporte para o laboratório ou devido ao facto de o estadio agudo da doença já ter terminado.³

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

A peptona da caseína fornece compostos de nitrogénio e de carbono essenciais. A lactose presente no meio destina-se a manter um pH uniforme. Quando a selenite é reduzida devido ao crescimento de bactérias, são produzidos alcalis que aumentam o pH. Este aumento diminuirá a toxicidade da selenite e originará o crescimento excessivo de outras bactérias. O ácido produzido pela fermentação da lactose serve para manter um pH neutro ou ligeiramente mais baixo. O fosfato tem uma dupla função: serve para manter um pH estável e também diminui a toxicidade da selenite, aumentando assim a capacidade do meio. A selenite de sódio inibe muitas espécies de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo os enterococos e os coliformes.

VII REAGENTES

Selenite-F Broth

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Digerido pancreático de caseína	5,0	g
Lactose	4,0	g
Selenite de sódio	4,0	g
Fosfato de sódio	10,0	g

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos com tampas apertadas devem ser abertos com cuidado, para evitar lesões devido a quebra do vidro.

Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"⁴⁻⁷ e as linhas de orientação da instituição. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilize em autoclave os tubos preparados, recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 8°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os tubos com meio que forem armazenados conforme indicado no rótulo até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{8,9} As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

Selenite-F Broth

Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

Para as fezes e outros materiais sólidos, suspenda 1 ou 2 g da amostra em meio líquido (aproximadamente 10 a 15% por volume) e emulsione com uma agulha de inoculação, se necessário.

Incube os tubos com as tampas desapertadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, durante um período máximo de 24 h. Se possível, as repicagens devem ser efectuadas após 12 a 18 h de incubação. Se a incubação se prolongar além das 24 h, haverá tendência para um crescimento excessivo de coliformes em relação aos outros agentes patogénicos.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Cada lote de meio foi testado com microrganismos de controlo de qualidade adequados e estes testes cumprem as especificações do produto e as normas CLSI, quando aplicáveis. Como é norma, os testes de CQ devem ser realizados de acordo com os regulamentos locais, distritais, federais ou nacionais, os requisitos de acreditação e/ou os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório.

Deverá ser utilizado um único eléctrodo de tamanho suficientemente pequeno que caiba nos tubos para determinar o pH, através de potenciometria, dos meios em tubo. A ponta do eléctrodo deverá ser colocada abaixo da superfície do meio líquido.

X RESULTADOS

Após a incubação, deverá registar-se um aumento do número de agentes patogénicos para os quais o meio foi concebido para seleccionar e enriquecer. Efectue a repicagem para meios selectivos e diferenciais apropriados (por ex., Ágar MacConkey, Ágar entérico Hektoen, Ágar XLD, Ágar XLT4 e CHROMagar Salmonella) de forma a isolar os agentes patogénicos para identificação.

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Os meios líquidos enriquecidos não devem ser utilizados como o único meio de isolamento. Devem ser utilizados em conjunto com meios em placa selectivos e não selectivos, para aumentar a probabilidade de isolamento de agentes patogénicos, especialmente quando estes possam existir em número reduzido. Para a identificação, os microrganismos devem ser uma cultura pura. Para uma identificação final, devem ser efectuados testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.⁸⁻¹⁰

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Num estudo realizado por Kelly et al.¹¹, foram cultivadas em laboratório 8717 amostras de fezes. As amostras foram inoculadas directamente sobre Ágar XLD e meio líquido de selenite enriquecido. Após 12 a 18 h, procedeu-se à repicagem do meio líquido de selenite para Ágar XLD. Foi identificada *Salmonella enterica* em 312 (3,6%) amostras de fezes; destas, 197 (63%) pertenciam a casos previamente diagnosticados e 115 (37%) pertenciam a novos casos identificados. Dos 115 novos casos de *S. enterica*, 68 foram isolados a partir da placa XLD primária e do meio líquido de selenite. No entanto, 47 (41%) cresceram apenas após o enriquecimento com selenite.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat.	Descrição
221020	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, emb. com 10 tubos K
221021	BD BBL Selenite-F Broth, 8 mL, caixa com 100 tubos K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Leifson, E. 1936. New selenite selective enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid *Salmonella* bacilli. Am. J. Hyg. 24:423-432.
2. Taylor, W.I., and B. Harris. 1965. Isolation of Shigellae, II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol. 44:476-479.
3. Nachamkin, I. 1999. *Campylobacter* and *Arcobacter*, p. 716-726. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
5. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
6. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
8. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
11. Kelly, S., M. Cormican, L. Parke, G. Corbett-Feeney, and J. Flynn. 1999. Cost-effective methods for isolation of *Salmonella enterica* in the clinical laboratory. J. Clin. Microbiol. 37: 3369.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD