

AGAR MYP

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

NOME TÉCNICO

ÁGAR MANITOL GEMA DE OVO POLIMIXINA

APRESENTAÇÃO

Pacote com 10 placas 90x15mm – Cód. PA346

Pacote com 10 placas 140x15mm – Cód. PA347

COMPOSIÇÃO

Formulação	g/L
Extrato de carne bovina	1,0
Peptona	10,0
D-Manitol	10
Cloreto de sódio	10
Vermelho de fenol	25 mg/L
Agar	15
Egg Yolk	100 mL/L
Polimixina B (50.000 UI)	5 mL/L
Água purificada	900 mL

REGISTRO NO MINISTÉRIO DA SAÚDE:

ISENTO

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Conservar o produto sob refrigeração (2 a 8° C).

Válido por 120 dias após a fabricação.

Verificar o prazo de validade na embalagem.

Nunca utilizar produtos com validade expirada.

Este produto apresenta na sua composição elevada porcentagem de água, por isso ao sofrer variações de temperatura ele pode apresentar água de condensação em quantidades variadas, ocasionando o acúmulo de água na placa.

A água acumulada na placa por variação de temperatura não altera o desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento, contaminação, ou seja, alteração no aspecto do produto.

O uso de refrigerador frost-free não é recomendado para os meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Recomenda-se guardar as placas com o meio de cultura virado para cima, e quando ocorrer o acúmulo de água, desprezar a água de condensação e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura ambiente antes de sua utilização. Retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto a ser utilizado na rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada antes da sua utilização, em temperatura ambiente ou incubar em estufa $\pm 37^{\circ}\text{C}$. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, pois a constante troca de temperatura, pode ocasionar a desidratação do meio, expor o produto a contaminação ou gerar acúmulo excessivo de água.

TRANSPORTE

O produto pode ser transportado em temperatura ambiente (10 a 30° C) por até 120 horas.

CUIDADOS ANTES DO USO

Por tratar-se de material estéril, manusear o produto utilizando equipamentos de proteção individual (luvas, avental e máscara) em ambiente com assepsia de preferência em cabine de segurança biológica classe II.

Somente para o uso em laboratório.

IRRITANTE. Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele.

Não usar materiais com selo de qualidade rompido ou violado.

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS COM O PRODUTO

Alça bacteriológica, frascos estéreis e swabs para coleta das amostras; fluxo laminar, bico de bunsen; estufa bacteriológica; microscópio ótico; incubadores para tensão de CO_2 .

INFORMAÇÕES TÉCNICAS

- FINALIDADE

O ágar MYP também é conhecido como Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar) e foi desenvolvido para o isolamento de *Bacillus cereus* em alimentos. Este meio diferencia *B. cereus* de outras bactérias com base na resistência à Polimixina B, ausência de fermentação de Manitol e presença de Lecitinase.

Intoxicação alimentar causada por *Bacillus cereus* pode ocorrer devido à proliferação do micro-organismo quando alimentos são preparados e manuseados sem refrigeração suficiente, causando gastroenterites. O *B. cereus* pode ser encontrado em vegetais, alimentos crus, processados e na natureza.

Os micro-organismos 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 micro-organismos contaminantes que fermentam o

manitol. O *B. cereus* também produz lecitinase, que hidrolisa a lecitina, 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.

Em sua formulação o extrato de carne bovina e a peptona são as fontes de nitrogênio, vitamina e carbono. O manitol é a fonte de carboidrato e a fermentação é detectada pelo indicador de pH vermelho de fenol. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico do meio e o ágar bacteriológico é o agente solidificante. A suplementação com Egg Yolk Newprov fornece a Lecitina e a Polimixina B (50.000 UI) inibe o crescimento da maioria das outras bactérias.

- AMOSTRA

Amostras de alimentos em geral.

- TÉCNICA DE USO

INOCULAÇÃO

Deixar as placas ambientalizarem antes do uso (temperatura ambiente ou estufa a $35-37^{\circ}\text{C}$);

Semear o material de acordo com as técnicas estabelecidas no laboratório;

Espalhar o inóculo o mais rapidamente possível;

INCUBAÇÃO

Incubar em estufa microbiológica por período de tempo e temperatura correspondente ao procedimento adotado.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Bactérias que fermentam Manitol produzem ácido e formam colônias amarelas. Bactérias que produzem lecitinase hidrolisam a Lecitina e formam uma zona de precipitado branco ao redor das colônias (halo). *B. cereus* é tipicamente manitol negativo (colônias rosas) e lecitinase positiva (zona de precipitado ao redor das colônias/halo).

INTERFERENTES

Devido à variação nutricional, algumas cepas podem apresentar um crescimento fraco ou ausência de crescimento neste meio.

DESCARTE DO PRODUTO E DA AMOSTRA

Descartar o produto e a amostra de acordo com o programa de gerenciamento de resíduos do laboratório.

* Para o produto sem contato com a amostra seguir o plano de gerenciamento de resíduos químicos.

* Para a amostra e produto com amostra seguir plano de gerenciamento de resíduos infectantes ou possivelmente infectantes.

* Após incubação o produto deverá ser autoclavado a 121°C por 30 minutos e descartado em lixo apropriado.

CONTROLE DE QUALIDADE

ANÁLISE	RESULTADO ESPERADO
pH final a 25°C	$7,2 \pm 0,2$
Aspecto final	Meio laranja amarelado a rosa alaranjado, ligeiramente opalescente. Pode apresentar precipitados, provenientes do ovo em sua composição.
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778 inóculo ~ 10 – 300 UFC	Crescimento; colônias rosas com halo de lecitinase
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 inóculo ~ 10 – 300 UFC	Crescimento; colônias translúcidas, cor de ágar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 inóculo ~ 300 – 1000 UFC	Crescimento notavelmente oprimido a inibido; colônias amarelas, se recuperadas
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 inóculo ~ 10 – 300 UFC	Crescimento; colônias amarelas
Esterilidade	Ausência de crescimento

GARANTIA DA QUALIDADE

Este produto é fabricado e liberado para venda após testes de controle de qualidade para cada lote, conforme normas das Boas Práticas de Fabricação e Controle de produtos para diagnóstico de uso *in vitro*.

Para eficácia do produto é necessário:

- Utilizar amostras clínicas coletadas, transportadas e armazenadas de acordo com a indicação da literatura especializada;
- Seguir rigorosamente todas as etapas descritas nesta instrução de uso.
- Utilizar acessórios e equipamentos adequados e em boa conservação.
- Transportar e armazenar o produto de acordo com as condições indicadas.
- Nunca utilizar produtos com a embalagem original danificada.
- Nunca utilizar produto com prazo de validade expirado.

Caso ocorra qualquer problema na utilização do produto relativo à qualidade intrínseca do mesmo, que tenha ocorrido por falha de fabricação comprovada, a Newprov resolverá a questão sem ônus ao cliente, conforme determinado na Lei 8.078/90 – Código de Defesa do Consumidor.

A Newprov disponibiliza, aos seus clientes, assessoria técnico-científica para quaisquer esclarecimentos necessários quanto a utilização deste produto que não estejam contemplados nesta instrução de uso, através de contato com o SAC - Serviço de Atendimento ao Consumidor.

Certificados de análise de cada lote estão disponíveis na empresa e podem ser encaminhados ao cliente sempre que solicitados ao SAC ou acesso pelo site www.newprov.com.br após cadastro no campo de acesso restrito.

A versão atual da instrução de uso encontra-se disponível no site www.newprov.com.br. Na necessidade da versão impressa, solicitar sem custo adicional (inclusive de envio) ao nosso SAC pelo (41) 38881300 ou sac@newprov.com.br.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mossel, D. A. A., M. J. Koopman, and E. Jongerijs. 1967. **Enumeration of *Bacillus cereus* in foods**. Appl. Microbiol. 15:650-653.
2. Donovan, K. O. 1598. **A selective medium for *Bacillus cereus* in milk**. J. Appl. Bacteriol. 21:100-103.
3. Coliner, A. R. 1948. **The action of *Bacillus cereus* and related species on the lecithin complex of egg yolk**. J. Bacteriol. 55:777-785.
4. www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalytica/ManualBAM/default.htm
5. Downes, F. P. and K. Ito (eds). 2001. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 6. Andrews W. 1995. Microbial methods. In Official methods of analysis of AOAC International, 16th ed. AOAC International. Arlington, VA.
6. APHA. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 5th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.
7. **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.
8. **ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media**. 1RD ED. The International Organization for Standardization, 2014.

PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO DE USO *IN VITRO*

Fabricado e distribuído por:
Newprov Produtos para Laboratório Ltda
Rua 1º de Maio, 590/608 - Centro - CEP: 83323-020 - Pinhais - PR
CNPJ: 73.636.391/0001-09
Responsável Técnica:
Bárbara Pereira Albini – CRF/PR 19057
Indústria Brasileira
Serviço de Assessoria e Soluções de excelência em análises laboratoriais
SAC: 41 38881300 – sac@newprov.com.br