

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ADJUVANTE

Estearato de Magnésio

Contagem de microrganismos aeróbicos totais: TSA

Contagem de leveduras e fungos filamentosos: SDA

MÉTODO DE CONTAGEM UTILIZADO: SEMEADURA EM SUPERFÍCIE

Bactéria total: Triptona-soja agar (TSA)

Digestão enzimática de caseína, 15,0 g/L; digestão papaica de farinha de soja 5g/L; cloreto de sódio 5,0g/L; Agar 15g/L (pH Final: $7,3 \pm 0,2$ a 25°C).

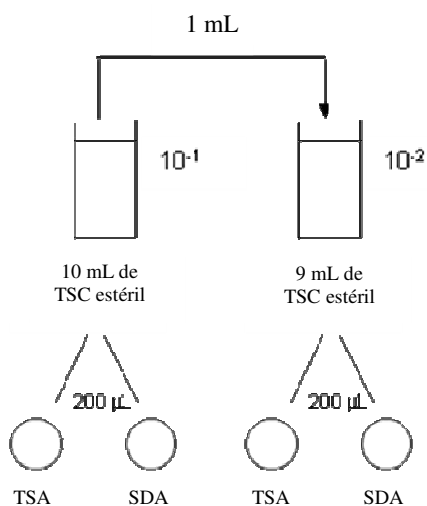
Fungos: Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Dextrose, 40 g/L; peptona, 10 g/L; Agar, 15 g/L (pH Final = $5,6 \pm 0,2$ a 25°C).

Procedimento



- 1) Pesar 1g de estearato de magnésio e adicionar em béquer contendo 0,1g de Tween 80. Homogeneizar;
- 2) Adicionar cerca de 1 mL de TSC e homogeneizar. A seguir, adicionar, aos poucos, 9 mL de TSC. Homogeneizar bem (diluição 10^{-1});
- 3) Filtrar;
- 4) A partir desta diluição, preparar a diluição 10^{-2}



Limites farmacopeicos

Microrganismos aeróbicos totais:

$\leq 10^3$ UFC/g de produto

Total de fungos filamentosos e leveduras:

$\leq 5 \times 10^2$ UFC/g de produto

Realizar o experimento em duplicata

TSA: Incubar a $30-35^{\circ}\text{C}$, durante 3 a 5 dias.

SDA: Incubar a $20-25^{\circ}\text{C}$, durante 5 a 7 dias.

Pesquisa de patógenos específicos

Meio de enriquecimento / seletivo

Caldo triptona soja (TSC): Digestão enzimática de caseína, 17,0 g/L; digestão papaica de farinha de soja 3 g/L; fosfato dipotássico 2,5 g/L; glicose monohidratada 2,5 g/L (pH Final: $7,3 \pm 0,2$ a 25°C).

- 1) Transferir 1 mL da diluição 10^{-1} para 9 mL de meio TSC;
- 2) Incubar a 30-35°C durante 18-24h;

- Pesquisa de *Escherichia coli* (Caldo e Agar MacConkey)

- 1) Transferir 1 mL do meio TSC, após incubação, para 9 mL de caldo MacConkey;
- 2) Incubar a 42-44°C durante 24-48h;
- 3) Transferir 200 µL para placa contendo Agar MacConkey;
- 4) Incubar a 30-35°C durante 18-72h.

Interpretação: a presença de colônias vermelho-violetas, com halo turvo, sugerem a presença de *E. coli*.

- Pesquisa de *Salmonella* (Caldo Rappaport-Vassiliadis e Agar XLD)

- 1) Transferir 1 mL do meio TSC, após incubação, para 9 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis;
- 2) Incubar a 30-35°C durante 18-24h;
- 3) Transferir 200 µL para placa contendo Agar XLD;
- 4) Incubar a 30-35°C durante 18-48h

Interpretação: a presença de colônias vermelhas, com centro negro ou não, sugerem a presença de *Salmonella*.

Caldo MacConkey

Peptona (20g/L), lactose (10g/L), sais biliares (5g/L), púrpura de bromocresol (0,01g/L) (pH Final: $7,3 \pm 0,1$ a 25°C).

Agar MacConkey

Peptona (20g/L), lactose (10g/L), cloreto de sódio (5g/L), sais biliares (1,5g/L), vermelho neutro (0,03g/L), cristal violeta (0,001g/L) e Agar (15g/L) (pH Final: $7,1 \pm 0,2$ a 25°C).

Caldo Rappaport-Vassiliadis

Peptona de soja (5g/L), cloreto de sódio (8g/L), fosfato monopotássico (1,6g/L), cloreto de magnésio (40g/L), verde de malaquita (0,04g/L) (pH Final: $5,2 \pm 0,2$ a 25°C).

Agar XLD

Extrato de levedura (3g/L), L-lisina HCl (5g/L), xilose (3,75g/L), lactose (7,5g/L), sacarose (7,5g/L), desoxicolato de sódio (1,0g/L), cloreto de sódio (5g/L), tiosulfato de sódio (6,8g/L), citrato de amônio férrico (0,8g/L), vermelho de fenol (0,08g/L), Agar (12,5g/L) (pH Final: $7,4 \pm 0,2$ a 25°C).