

Finalidade:

Laminocultivo utilizado para contagem microbiana em amostras líquidas (inclusive líquidos viscosos), sólidas e superfícies.

Registro ANVISA:

10097010149

Apresentação:

500103 - NUTRILAB E C. TOT./COL-PCA/VRBL-CX 10TB
500106 - NUTRILAB F C.TOT/FG.LEV-PCA/OGYE-CX 10TB
500108 - NUTRILAB P EC/SA-ECC/BP-CX 10TB

LB 170101
Rev. 23 – 11/2022

1. INTRODUÇÃO

Os laminocultivos fornecem um sistema adequado, fácil de usar e econômico para o controle microbiológico em fluidos ou superfícies de amostragem. Cada laminocultivo contém uma lâmina com duas faces contendo duas superfícies de ágar. As duas faces podem ter diferentes meios, portanto, com um dispositivo, você pode ter dupla informação de contaminação microbiana. O produto apresenta algumas combinações de meios de cultura, possibilitando seu emprego em situações diversas:

- Nutrilab E é composto por meio PCA (face 1) para contagem de microrganismos totais e meio VRBA (face 2) para isolamento e contagem de coliformes.

- Nutrilab F é composto por meio PCA (face 1) para contagem de microrganismos totais e meio Ogye (face 2) para isolamento e contagem de bolores e leveduras.

- Nutrilab P é composto por meio ECC (face 1) para isolamento e contagem de Coliformes e *E. coli.* e meio Baird Parker (face 2) para isolamento e contagem de *S. aureus.*

2. COMPOSIÇÃO**2.1 NUTRILAB E**

- Plate Count ágar

Formulação	Concentração/L
Digesto Pancreático de Caseína	5,0g
Extrato de Leveduras	2,5g
Dextrose	1,0g
Agar	15,0g
H ₂ O purificada	1L
Cloreto de trifetil-tetrazólio (TTC)	0,05g
pH 7,0 ± 0,2 a 25°C	

- Violet Red Bile ágar

Formulação	Concentração/L
Nutrientes	9,0g
Sais Biliares	1,5g
Lactose	10,0g
Cloreto de Sódio	5,0g
Vermelho Neutro	0,03g
Cristal de Violeta	0,002g
Agar	12,0 g
H ₂ O purificada	1L
pH 7,4± 0,2 a 25°C	

2.2 NUTRILAB F

- Plate Count ágar

Formulação	Concentração/L
Digesto Pancreático de Caseína	5,0g
Extrato de Leveduras	2,5g
Dextrose	1,0g
Agar	15,0g
H ₂ O purificada	1L
Cloreto de trifetil-tetrazólio (TTC)	0,05g
pH 7,0 ± 0,2 a 25°C	

- Ogye ágar

Formulação	Concentração/L

Extrato de Leveduras	5,0g
Dextrose	20,0g
Agar	12,0g
H ₂ O purificada	1L
Oxitetraciclina	0,1g
pH 7,0 ± 0,2 a 25°C	

2.3 NUTRILAB P

- Baird Parker ágar

Formulação	Concentração/L
Digesto Pancreático de Caseína	10,0g
Extrato de carne	5,0g
Extrato de Leveduras	1,0g
Glicina	12,0g
Piruvato de sódio	10,0g
Cloreto de lítio	5,0g
Agar	20,0g
Suspensão Gema de ovo 50%	25 mL
Telurito de potássio	0,075g
H ₂ O purificada	1L
pH 6,9 ± 0,2 a 25°C	

- ECC ágar

Formulação	Concentração/L
Polipeptona	18,4g
Sistema tampão	5,8g
Promotores de crescimento	3,55g
Mistura cromogênica	0,44g
Agentes seletivos	161g
Agar bacteriológico	11g
H ₂ O purificada	1L
pH 6,9 ± 0,2 a 25°C	

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

3. MATERIAL

a- Tipos de amostras

- Quaisquer materiais líquidos em que se deseje uma análise de crescimento de microrganismos, passíveis de recuperação pelos meios utilizados, dentro do limite de sensibilidade do produto, que é de 10² UFC/mL. As amostras sólidas podem ser utilizadas desde que diluídas em diluente apropriado na proporção de 1:10 (o mesmo aplicado a líquidos viscosos). A amostra pode ser coletada diretamente no frasco do produto ou em recipientes estéreis. Este produto pode ser utilizado na contagem microbiana de superfície através de imprint ou decalque.

- 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 sementeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio do método

A amostra é inoculada nos meios e incubadas de acordo com a técnica escolhida pelo laboratório, sendo depois avaliado visualmente seu grau de contaminação através da comparação com o gabarito ou contagem de colônias (UFC/mL).

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório o Nutrilab E e o Nutrilab F devem ser armazenados em temperatura ambiente, já o Nutrilab P deve ser armazenado 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.

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 pouca a muita, acumulando água nos tubos. Recomenda-se guardar os tubos 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.

c- Precauções e cuidados especiais

- O produto destinado apenas para o uso diagnóstico *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 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 para incubação
- Diluente para amostras

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

6.1 Amostras sólidas, líquidos ou líquidos viscosos

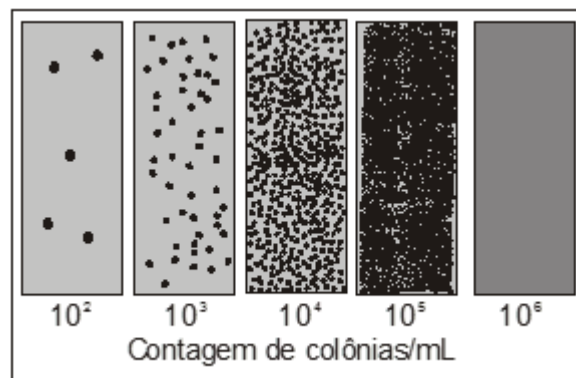
a- Romper o lacre do vial, desrosquear a tampa e remover a tampa com a lâmina contendo os meios, sem tocar as superfícies dos mesmos com as mãos.

b- Mergulhar as lâminas com os meios no líquido em análise ou gotejar a amostra sobre os meios, voltar a adaptar a tampa ao vial e fechar.

c- Incubar na temperatura e tempo adequados para o microrganismo a ser isolado ($35-37^{\circ}\text{C}$ por 48 horas para bactérias e $20-25^{\circ}\text{C}$ por 5 dias para fungos), depois observar o crescimento de colônias em cada meio, comparando o padrão com o gabarito abaixo para obter o resultado em UFC/mL.

OBS:

Para o Nutrilab F incubar as lâminas a $35-37^{\circ}\text{C}$ por 48 horas e realizar a leitura da face 1, reincubar a $20-25^{\circ}\text{C}$ por 5 dias e realizar a leitura da face 2.



6.2 Contagem de superfície

- Um único imprint ou decalque

Aplicar o meio delicadamente uma única vez sobre a superfície a ser analisada (imprint ou decalque) e incubar na temperatura e tempo adequados para o microrganismo a ser isolado ($35-37^{\circ}\text{C}$ por 48 horas para bactérias e $20-25^{\circ}\text{C}$ por 5 dias para fungos).

- Vários imprint ou decalques

Aplicar o meio delicadamente várias vezes sobre a superfície a ser analisada (imprint ou decalque), como por exemplo, nas mãos ou utensílios, e incubar na temperatura e tempo adequados para o microrganismo a ser isolado ($35-37^{\circ}\text{C}$ por 48 horas para bactérias e $20-25^{\circ}\text{C}$ por 5 dias para fungos).

7. RESULTADOS

7.1 Para amostras líquidas

- Não houve crescimento: $<10^2$ UFC/mL

- Havendo crescimento: Comparar o crescimento com o correspondente no gabarito e reportar o resultado em UFC/mL.

7.2 Para amostras obtidas por contato (único imprint)

- Não houve crescimento: Ausência de crescimento.

- Havendo crescimento: O resultado é obtido dividindo-se o número de colônias contadas por 8,5 (área do laminocultivo), desta maneira obtêm-se o número de UFC/cm² de superfície.

7.3 Para amostras obtidas por contato (vários imprint)

- Não houve crescimento: Ausência de crescimento/espaco (mão, utensílio, etc).

- Havendo crescimento: Contar o número de colônias e o resultado é reportado como ____ (nº de colônias) UFC/espaco (mão, utensílio, etc).

Interpretação

A interpretação dos resultados deve ser feita levando em conta diversos fatores como a natureza do material analisado, limites permitidos etc.

No Plate Count Agar com TTC, que torna as colônias vermelhas (o produto é adicionado para melhor visualização), no caso de avaliação de crescimento, considera-se apenas o número de colônias contadas, não importando suas outras características.

A interpretação da contagem em superfície varia muito de acordo com uma série de fatores que incluem o tipo de superfície, a execução ou não de sanitização (incluindo tipo de sanitizante). Recomendamos consultar a literatura de referência.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 36/2015)

Os resultados falsamente positivos ou negativos, riscos associados à instabilidade, que poderiam levar a resultados errôneos e danos relacionados ao usuário, podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Tempo longo entre a sementeira da amostra e análise. Ao utilizar colônias isoladas em um período superior a 24 horas, o metabolismo bacteriano pode ficar comprometido e a leitura de alguns parâmetros podem consequentemente ficar defasados ou até mesmo não ocorrer. Em colônias recentes (inferior ao período de 18 horas) não se encontram com o metabolismo bem definido, e algumas provas podem não ocorrer.

- Incubação em temperatura inadequada.

- Sobrecarga de inóculo ou falta de inóculo. Laminocultivos com inóculos mais carregados podem gerar resultados falsamente positivos e inóculos em menor quantidade podem fornecer resultados falsamente negativos.

- 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

- O Nutrilab é indicado para contagem microbiana, assim sendo, quaisquer outras análises necessárias devem ser realizadas conforme indicações técnicas descritas em literatura.

- Não se deve usar o produto para avaliar grau de contaminação inferior a 10^2 UFC/mL, em amostras líquidas ou 10^4 UFC/mL em amostras que necessitem de diluição.

- No caso de amostra analisada apresentar grau de contaminação superior a 10^7 UFC/mL recomenda-se diluir a amostra em diluente estéril apropriado e realizar a contagem na diluição, multiplicando o resultado obtido pelo fator de diluição.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

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

- *Controle de qualidade recomendado:*

9.1 NUTRILAB E

- Plate Count ágar

Parâmetro	Resultado esperado
Produtividade qualitativa - <i>E. coli</i> ATCC 25922	Crescimento Bom - Colônias vermelhas

- Violet Red Bile Ágar

Parâmetro	Resultado esperado
Produtividade qualitativa - <i>E. coli</i> ATCC 25922	Crescimento Bom - Colônias vermelhas
Seletividade qualitativa – <i>S.aureus</i> ATCC 25923	Inibição

9.2 NUTRILAB F

- Plate Count ágar

Parâmetro	Resultado esperado
Produtividade qualitativa - <i>E. coli</i> ATCC 25922	Crescimento Bom - Colônias vermelhas

- Ogye ágar

Parâmetro	Resultado esperado
Produtividade qualitativa - <i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	Crescimento bom
Seletividade qualitativa – <i>E.coli</i> ATCC 25922	Inibição

9.3NUTRILAB P

- ECC ágar

Parâmetro	Resultado esperado
Produtividade qualitativa - <i>E. coli</i> ATCC 25922	Crescimento bom - Colônias roxa-azuladas
Produtividade qualitativa - <i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	Crescimento bom - Colônias róseas

- Baird Parker ágar

Parâmetro	Resultado esperado
Produtividade qualitativa - <i>S. aureus</i> ATCC 25923	Crescimento bom - Colônias negras, com halo de lecitinase
Seletividade qualitativa - <i>E.coli</i> ATCC 25922	Inibição
Especificidade - <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	Colônias negras sem halo de lecitinase

- *Periodicidade*

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

- *Análise dos resultados*

Os meios testados com cepas padrão devem 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;

- que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;

- que 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 0800-410027 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

1. Difco Manual, edition 2009.

2. 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.

3. TRAIGAND Kumin. Quantitative culture method using a plastic "paddle" containing dual media applied microbiology. 1972.

**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:

Daniela Fialho – CRF/PR-37492
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 <i>in vitro</i>
	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 oxido 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 de luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho de IVD
	Não reutilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Segunda edição (28.07.2015)