DRBC ÁGAR FUNGOS

Finalidade:
Meio de cultura destinado ao cultivo e contagem de fungos (bolores e leveduras).

Registro ANVISA:

10097010134

Apresentação:

540169 - DRBC-AGAR-FUNGOS-20mL-PL 90X15-10PL

LB 172174
Rev 06 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

A quantificação de bolores e leveduras em alimentos é feita pelo método de contagem padrão em placas, determinando-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC). O método mais recomendado é o plaqueamento em superfície, para aumentar a exposição ao oxigênio e evitar o "stress" causado pelo meio de cultura quente. O Ágar Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) é um meio usado para o isolamento e enumeração de bolores e leveduras em produtos destinados ao consumo humano ou alimentação de animais com atividade da água (A_w) maior que 0,95. O meio DRBC Ágar Fungos possui peptonas que fornecem fonte de nitrogênio, vitaminas e minerais. A glicose atua como a fonte de carboidratos. O fosfato é um agente tamponante. O sulfato de magnésio é uma fonte de cátions bivalentes e sulfato. O composto dicloran, é adicionado ao meio com a finalidade de reduzir os diâmetros das colônias que se desenvolvem. A presença do composto rosa bengala suprime o desenvolvimento bacteriano e restringe o tamanho e a altura das colônias dos bolores que por ventura tenham o crescimento rápido e que poderiam se espalhar no meio. O rosa bengala é absorvido pelos bolores e leveduras, o que resulta na facilitação de sua visualização e contagem. O cloranfenicol é incluído neste meio para inibir o crescimento de bactérias presentes em amostras ambientais e de alimentos.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/ L
Peptona	5,0g
Glicose	10,0g
Fosfato monopotássico	1,0g
Sulfato de magnésio	0,5g
Dicloran	0,002g
Rosa bengala	0,025g
Cloranfenicol	0,05g
Cloridrato de Clortetraciclina	0,05g
Sulfato de zinco	0,01g
Sulfato de cobre	0,005g
Tergitol	1ml
Agar	12,0 – 15,0g
pH 5,6±0,2 a 25ºC	

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

3. AMOSTRAS

a- Tipos de amostras

- Recomendado para alimentos com atividade de água (A_w) maior que 0,95 e produtos lácteos em geral, porém vários tipos de amostras podem ser inoculadas no DRBC Agar Fungos.
- 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 as placas devem ser armazenadas em temperatura de 2 a 8ºC, 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 na placa. Recomenda-se guardar as placas 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 (±35ºC) 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 influência 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.

b- Precauções e cuidados especiais

- O 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 placas 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 121ºC 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. MATERIAL NECESSÁRIO (porém não fornecido)
- Estufa bacteriológica;
- Bico de Bunsen;
- Pipetas/ ponteiras estéreis;
- Alça drigalski.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO
a- Retirar o produto do refrigerador e separar apenas o que será utilizado;
b- Identificar as placas seguindo os critérios adotados pelo laboratório;
c- Semear o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório referentes ao acondicionamento, preparo e diluições;
d- Incubar por período de tempo exigido pela técnica adotada.
e- Realizar leitura.
Nota: não incubar as placas invertidas.

7. RESULTADOS
a- Para contagem de colônias e cálculo dos resultados, selecionar as placas com 10 a 150 colônias.
b- Nas placas selecionadas, contar separadamente as colônias com aspecto filamentoso, cotonoso ou pulverulento, característico de bolores, anotar resultado.
c- Na mesma placa, contar as demais colônias, que podem ser de levedura ou bactérias, eventualmente capazes de crescer. Selecionar pelo menos 5 dessas colônias e verificar a morfologia das células ao microscópio, observando se a cultura é levedura, bactérias ou mistura de ambas.
d- Realizar a confirmação conforme técnica já estabelecida.
e- Para calcular o número de bolores e leveduras, somar o número de colônias de bolores e o número de colônias confirmadas como leveduras e multiplicar por 10 e pelo inverso da diluição.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO
(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)
Os resultados falsamente positivos ou negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:
- Devido à variação nutricional, algumas cepas podem apresentar um crescimento deficitário ou ausente.
- Os esporos de bolores se espalham facilmente no ar. Após a incubação, movimentar as placas com cuidado para evitar desta forma o espalhamento destes esporos na placa que pode superestimar o resultado da contagem.
- Incubação em temperatura inadequada.
- Sobrecarga de inóculo ou falta de inóculo. Placas 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.

9. CONTROLE DE QUALIDADE
- Materiais necessários
Cepas padrão: ATCC® (*American Type Culture Collection)* ou derivadas).

- Controle de qualidade recomendado:

Parâmetros	Resultado esperado	
Produtividade quantitativa - *C. albicans* ATCC 10231	PR≥0,5-Contagem obtida em comparação ao ágar Sabouraud	Incubação 20-25°C <= 5 dias Inóculo aproximado de 100 UFC
Produtividade quantitativa - *S. cerevisiae* ATCC 9763	PR≥0,5-Contagem obtida em comparação ao ágar Sabouraud	Incubação 20-25°C <= 5 dias Inóculo aproximado de 100 UFC
Produtividade quantitativa - *A. brasiliensis* ATCC 16404	PR≥0,5-Contagem obtida em comparação ao ágar Sabouraud	Incubação 20-25°C <= 5 dias Inóculo aproximado de 100 UFC
Meio não inoculado	Meio em placa com coloração rosa a avermelhado, ligeiramente opalescente.	

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

- Análise dos resultados
As cepas padrão inoculadas no material devem apresentar características de crescimento esperado. Caso se constate algum problema referente a não recuperação do inóculo de cepas controle, os resultados de amostras não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

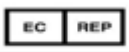
10. GARANTIA DA QUALIDADE
A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:
- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
-Os materiais estejam sendo armazenados em condições adequadas;
- 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 até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos junto ao site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou outras informações, contatar 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.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1. APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5*th* ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.
2. Difco Manual, 2nd ed., 2009.
3. ISO 21527-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds. Part 1: colony count technique in products with water activity greater than 0,95. The International Organization for Standardization, 2008.
4. 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.
5. SILVA, de Neusely; *et al*. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5ª 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 asséptica 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)