

Finalidade:

Meio de cultura estéril para cultivo e contagem de coliformes em superfície.

Apresentação:

540199 - VIOLET RED BILE AGAR LAC RODAC 10PL

LB 172222
Rev 05 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

As enterobactérias caracterizam-se por serem bacilos Gram negativos fermentadores da glicose, cujo crescimento é efetivo no Violet Red Bile lactose Ágar. O acréscimo da lactose permite diferenciar os coliformes das demais enterobactérias pelo desenvolvimento de coloração avermelhada de suas colônias (característica da fermentação deste açúcar).

As placas de contato para a análise microbiológica são indicadas para superfícies planas, envolvendo a impressão de um meio de cultura sólido contra a superfície. Para a remoção dos microrganismos, um contato de 5 segundos sob pressão do meio com a superfície a ser avaliada é suficiente para uma boa remoção das células das superfícies. Após a incubação das placas, as unidades formadoras de colônia são contadas, a fim de avaliar as condições microbiológicas da superfície amostrada.

As placas de contato Replicate Organism Direct Agar Contact (RODAC) disponíveis comercialmente são preenchidas com uma camada de 15,5 a 16,5 mL de meio de cultura, que ultrapassa a borda da placa de Petri, permitindo o contato facilitado do meio de cultura com a superfície analisada. Essas placas fornecem boa avaliação das condições higiênicas da superfície e são muito utilizadas, pela facilidade e conveniência de uso. É o método de escolha para superfícies úmidas, firmes e não porosas. Foram desenvolvidas por Hall e Hartnett em 1964 e são ineficazes para superfícies muito contaminadas, exceto quando esse problema é minimizado pelo uso de meios seletivos de análise.

Estudos mostram que o método RODAC remove somente cerca de 0,1% da microbiota da superfície. Isso sugere que 10^1 UFC/cm² detectados são referentes a uma contaminação real de aproximadamente 10^4 UFC/cm².

O Ágar Violet Red Bile Lactose é um meio seletivo para a detecção e enumeração de coliformes.

Microrganismos que atacam rapidamente a lactose produzem colônias roxo-rosa cercadas por halos roxos. Não fermentadores de lactose ou fermentadores de lactose tardios, produzem colônias pálidas com zonas esverdeadas. Outras bactérias Gram-negativas relacionadas podem crescer, mas podem ser suprimidas por incubação a temperatura >42°C ou por incubação anaeróbica.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/L
Nutrientes	10,0g
Sais Biliares	1,5g
Lactose	10,0g
Cloreto de Sódio	5,0g
Vermelho Neutro	0,03g
Cristal de Violeta	2,0mg
Agar	12,0 g
Água	1 L

pH 7,4± 0,2 a 25°C

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

3. AMOSTRAS

a- Tipos de amostras

- Amostra de superfície podem ser inoculadas no Violet red bile lactose ágar Rodac.
- 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 sementes em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS DO 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 8°C, condições em que se mantêm 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 ($\pm 35^\circ\text{C}$) 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 a 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

- Produto de aplicação não diagnóstica;
- 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 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. MATERIAL NECESSÁRIO (porém não fornecido)

- Estufa bacteriológica

- Bico de Bunsen

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- a- Retirar o pacote da refrigeração, e em ambiente asséptico, separar as placas a serem usadas, devolvendo o restante ao refrigerador;
b- Aguardar as placas deixar estabilizar em temperatura ambiente;
c- Com a placa em temperatura ambiente, encostar a superfície do meio de cultura na superfície a monitorar, fazendo uma leve pressão com os dedos no meio da placa, durante 5-10 segundos;
d- Incubar o material em estufa bacteriológica entre 30-35°C por 24-48h;
e- Seguir a técnica de contagem e identificação conforme critério adotado pelo laboratório;
f- As colônias de coliformes apresentam-se vermelhas (indicativo de fermentação da lactose).

7. RESULTADOS

Contar as colônias características e expressar o resultado:
Calcular o número de microrganismos viáveis m^2 , considerando o número de colônias, área da placa.
- Área da placa rodac = $25cm^2$.
- N^o de microrganismos viáveis = n^o colônias / 25×10^4

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:

- Tempo longo entre a semeadura 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. Placas com inóculos mais carregados fornecem 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 DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

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

- *Controle de qualidade recomendado:*

Parâmetro	Resultado esperado
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Colônias de coloração avermelhadas podendo ou não apresentar halo de precipitação.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Colônias incolores a bege
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibição total
Meio não inoculado	Coloração salmão a avermelhada, ligeiramente opalescente, com menisco positivo.

- *Periodicidade*

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

- *Análise dos resultados*

O Violet Red Bile Lactose Ágar testado com cepas padrão deve 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;

- Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
- 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 0800-0410027 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. ANDRADE, N. J. Higiene na Indústria de Alimentos: Avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. São Paulo, 2008.
2. Difco Manual, 2nd edition 2009.
3. KONEMAN, Elmer; et al. Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
4. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1st ed. The International Organization for Standardization, 2014.



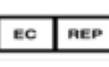
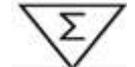
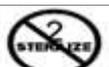
Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

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 <i>in vitro</i> .
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas 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)