

Finalidade:

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

Registro ANVISA:

Não aplicável

Apresentação:

900646 - S.E. IPEL - NUTRILAB P -LAMINOC.-CX 10TB

LB 172314
Rev 01 – 09/2024

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 pá com duas faces contendo duas superfícies de ágar. As duas faces contêm diferentes meios, portanto, com um dispositivo, você terá tripla informação de contaminação microbiana. O produto apresenta os seguintes meios de cultura:

Face 1A: ágar ECC para isolamento e contagem de Coliformes e *E. coli*.

Face 1B: ágar Baird Parker para isolamento e contagem de *S. aureus*.

Face 2: ágar Cetrimide para isolamento seletivo e diferencial da *Pseudomonas aeruginosa*.

2. COMPOSIÇÃO

- 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	

- 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	

-Ágar Cetrimide

Formulação	Concentração/L
Digesto pancreático de gelatina	20,0g
Cloreto de magnésio	1,4g
Sulfato de Potássio	10,0g
Cetrimide (Tetradecyltrimethylammonium Bromide)	0,3g
Agar	13,6g
Água deionizada	1L
pH 7,2± 0,2 a 25°C	

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

3. AMOSTRA

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 mãos através de imprint.

- 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 DO PRODUTO

a- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório deve ser armazenado em temperatura de 2 a 12°C, condições em que se mantém estável 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 (±35°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

- 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 laminas 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.

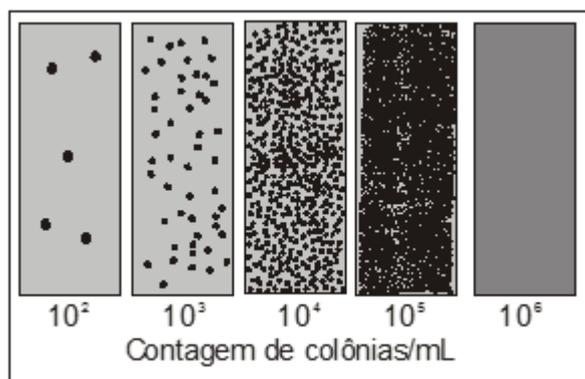
5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa para incubação
- Diluente para amostras

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

6.1 Amostras sólidas, líquidos ou líquidos viscosos

- 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.
- 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.
- Incubar na temperatura e tempo adequados para o microrganismo a ser isolado (35-37°C por 24 horas), depois observar o crescimento de colônias em cada meio, comparando o padrão com o gabarito abaixo para obter o resultado em UFC/mL.



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°C por 24 horas).

- 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°C por 24 horas).

NOTA: não é possível realizar contato com a superfície no lado da lâmina contendo os meios ECC e Baird Parker.

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 do número de colônias e o resultado é reportado como ____ (nº de colônias) UFC/espaco (mão, utensílio, etc).

Leitura

Ágar ECC:

As colônias com características típicas:

- Para Coliformes totais: são colônias róseas a vermelhas.
- Para *E. coli*: são colônias azul escuras ou roxas.

O resultado para coliformes totais deve ser a soma das colônias rosas e roxas.

OBS: No caso de dúvida referente a coloração das colônias, as mesmas podem ser identificadas através de provas bioquímicas, usando o Sistema Bactray.

Ágar Baird Parker:

As colônias com características típicas de *Staphylococcus aureus* são negras, brilhantes, convexas, cercadas por zona clara podendo apresentar uma borda opaca. As colônias possuem 0.5 a 1mm após 24 horas de incubação.

As colônias com características não típicas de *Staphylococcus aureus* são colônias negras, brilhantes, convexas, porém sem a zona clara ao redor da colônia.

Os microrganismos isolados devem ser submetidos à identificação por provas suplementares.

Ágar Cetrimide:

Colônias que são circundadas por um pigmento azul-esverdeado e fluorescem sob a luz ultravioleta pode ser presumivelmente identificada como *Pseudomonas aeruginosa*. No entanto, certas cepas de *P. aeruginosa* podem não produzir piocianina. Outras espécies de *Pseudomonas* não produzem piocianina, mas fluorescem sob luz UV. A maioria das espécies não-*Pseudomonas* é inibida e algumas espécies de *Pseudomonas* também podem ser inibidas.

Realizar testes bioquímicos e coloração de Gram para confirmação das colônias.

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:

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 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 conseqüentemente 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 DE QUALIDADE

- Materiais necessários

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

- Controle de qualidade recomendado:

Parâmetros	Resultado esperado	
Produtividade qualitativa - <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	Crescimento bom - Colônias verdes	meio de Cetrimide / 33-37°C 24h
Produtividade qualitativa - <i>E. coli</i> ATCC 25922	Inibição	meio de Cetrimide / 33-37°C 24h
Produtividade qualitativa - <i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	Crescimento bom - Colônias roseas	meio ECC / 33-37°C 24h
Produtividade qualitativa - <i>E. coli</i> ATCC 25922	Crescimento bom - Colônias roxas-azuladas	meio ECC / 33-37°C 24h
Seletividade qualitativa – <i>S. aureus</i> ATCC 25923	Inibição	meio ECC / 33-37°C 24h
Seletividade qualitativa – <i>S. aureus</i> ATCC 25923	Crescimento bom - Colônias negras, com halo de lecitinase (zona opaca cercada por um halo)	meio Baird Parker / 33-37°C 24h
Produtividade qualitativa - <i>S. saprophyticus</i> 35552	Crescimento bom - Colônias negras, sem halo de lecitinase	meio Baird Parker / 33-37°C 24h
Produtividade qualitativa - <i>E. coli</i> ATCC 25922	Inibição	meio Baird Parker / 33-37°C 24h
Teste de esterilidade - Incubação 33-37°C 48h	Sem crescimento	
Teste de esterilidade - Incubação 20-25°C por 5 dias	Sem crescimento	

- 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. 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.
4. Farmacopéia Brasileira, 5ª edição. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2010.



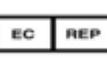
Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

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:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-410027
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 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)