

Finalidade:

Substrato para detecção quantitativa e qualitativa de coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água.

ANVISA nº MS:

10097010149

Apresentação:

510118 - AQUATESTES COLI ONPG/MUG CALDO CX 10FR
510119 - AQUATESTES COLI ONPG/MUG CALDO CX 200UN

LB 172038
Rev. 15 – 10/2024

1. INTRODUÇÃO

O grupo dos coliformes é considerado um indicador de contaminação fecal (poluição) da água, assim, sua detecção na amostra permite considerar esta como imprópria para consumo humano. O grupo dos coliformes compreende os bacilos Gram negativos, oxidase negativos, fermentadores da lactose com produção de gás a 37°C em até 48h. Este grupo compreende os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*.

O Aquatestes Coli detecta os coliformes totais através da atividade da enzima β -galactosidase, envolvida no metabolismo fermentativo da lactose. Esta enzima degrada o substrato ONPG (orto-nitrofenil-galactopiranosídeo), presente no Aquatestes Coli, resultando em um produto de coloração amarela.

A *Escherichia coli* é diferenciada dos demais coliformes pela capacidade de produzir β -glucuronidase, esta enzima degrada o substrato MUG (4-methyl-umbeliphenil-b-D-glucuronide), presente no Aquatestes Coli, resultando no produto 4-metilumbeliferona, o qual apresenta fluorescência quando em exposição à luz ultravioleta.

O Aquatestes Coli é inoculado na amostra, a qual é incubada por 24h a 35±2°C. Amostras de coliformes positivas são detectadas visualmente por desenvolvimento de cor amarela no meio de cultura, e a presença de *Escherichia coli* detectada pela observação de fluorescência azul esverdeada submetida à exposição de luz UV. A sensibilidade da metodologia para *Escherichia coli* é de 1 UFC/100mL de amostra. A especificidade para não-coliformes é 10⁶ UFC/100mL. Recomenda-se a utilização da *Escherichia coli* ATCC 25922, considerada MUG-positiva, conforme Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition. A cepa *E. coli* ATCC 8739, apresenta uma fraca fluorescência.

O Aquatestes Coli é um meio de cultura apresentado em frascos estéreis com quantidades individuais para uma amostra, contendo sais, fontes de carbono e nitrogênio, indicadores e nutrientes selecionados para detecção simultânea de coliformes totais e *Escherichia coli*. O meio possui inibidores de crescimento para os gêneros *Pseudomonas* e *Aeromonas*.

A *Shigella spp* também metaboliza o MUG pela presença da enzima β -glucuronidase, porém esta não cresce no meio, pelo baixo teor de substâncias nutrientes.

Para auxiliar na leitura dos resultados recomenda-se a utilização do Aquatestes Coli comparador de cor que é uma referência líquida colorida e fluorescente.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/L
Mistura cromogênica	0,6g
Nutrientes	19,4g

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

3. AMOSTRA**a- Tipos de amostras**

- Águas de poços, fontes, água mineral, reservatórios, sistemas de distribuição e determinação da eficiência operacional de uma estação de tratamento de águas e outras amostras de águas.

- 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.

b- Procedimento de coleta

Proceder à amostragem de 100 mL de amostra em recipiente estéril seguindo como descrito abaixo:

- **Água clorada:** acrescentar 0,1 mL de solução de Tiosulfato de Sódio a 10%;

- **Água in natura:** acrescentar 0,2 mL de solução de EDTA 15% objetivando quelar metais presentes na amostra que possam interferir no desenvolvimento analítico.

OBS: Volumes acima de 100 mL de amostra adicionar a quantidade das soluções acima proporcionalmente ao volume coletado.

Procedimentos assépticos devem ser adotados para a realização da coleta.

c- Critérios de rejeição

Rejeitar as amostras que forem coletadas em frascos impróprios ou que não estiverem devidamente identificadas (ponto, horário da coleta etc.).

d- Armazenamento e estabilidade da amostra

As amostras devem ser coletadas em recipientes estéreis e inoculadas o mais rapidamente possível. Do contrário, manter em geladeira (2-8°C) por até 24h.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO**a- Armazenamento e estabilidade**

Este produto deve ser conservado em temperatura ambiente (9 a 25°C), em locais secos e ao abrigo da luz. Nestas condições mantém-se estável até a validade expressa em rótulo, desde que a embalagem esteja íntegra e que o produto esteja isento de contaminação química e biológica. 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 os frascos com sinais de contaminação, umidade ou que os grânulos não estejam fluindo livremente;
- 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 bacteriológica;
- Recipientes estéreis para coleta com 100 mL de capacidade;
- Frascos que não emitam fluorescência quando expostos à luz ultra-violeta de 365 nm, com capacidade para 100 mL;
- Comparador de cor;
- Câmara de Luz UV 365 nm.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

6.1 Prova qualitativa

- a- Abrir o frasco contendo o meio, acrescentar seu conteúdo a um frasco estéril contendo 100 mL de amostra em análise e agitar suavemente até a homogeneização do meio;
- b- Incubar em estufa a 35±2°C durante 24h.
- c- Amostras permanecendo inalterada e sem turvação indica ausência de crescimento e são consideradas negativas para a presença de coliformes totais e *Escherichia coli*;
- d- As amostras coliformes positivas são detectadas visualmente por desenvolvimento de cor amarela no meio de cultura, sendo a presença de *Escherichia coli* detectada pela observação de fluorescência azul esverdeada submetida à exposição de luz UV com comprimento de onda de 365 nm, em ambiente escuro;

NOTA: Utilizar frascos que não emitam fluorescência (ex. frascos de vidro).

e- Em caso de dúvidas, durante a leitura de coliformes e *E. coli*, utilizar o comparador de cor da Laborclin (AQUATESTES COLI-COMPARADOR DE COR).

6.2 Prova quantitativa

- a- Abrir o frasco contendo o meio, acrescentar seu conteúdo a um frasco estéril contendo 100 mL de amostra em análise e agitar suavemente até a homogeneização do meio;
- b- Transferir alíquotas iguais de 20 mL para 5 tubos estéreis (que não emitam fluorescência);
- c- Incubar em estufa a 35±2°C durante 24h.
- d- Amostras permanecendo inalterada e sem turvação indica ausência de crescimento e são consideradas negativas para a presença de coliformes totais e *Escherichia coli*;
- e- As amostras coliformes positivas são detectadas visualmente por desenvolvimento de cor amarela no meio de cultura, sendo a presença de *Escherichia coli* detectada pela observação de fluorescência azul esverdeada submetida à exposição de luz UV com comprimento de onda de 365 nm, em ambiente escuro;
- f- Proceder à contagem com base no número de tubos positivos usando a tabela abaixo;
- g- Em caso de dúvidas, durante a leitura de coliformes e *E. coli*, utilizar o comparador de cor da Laborclin (AQUATESTES COLI-COMPARADOR DE COR).

NOTA: Ao se fazer a prova qualitativa não possibilita a quantificação dos microrganismos presentes. Com isso, se deve optar pela prova quantitativa previamente.

-TABELA NMP

Tubos Positivos	NMP/100mL
0	<1,1
1	1,1
2	2,6
3	4,6
4	8
5	>8

7. RESULTADOS

7.1 Relatório

- Não houve crescimento:

a- Prova qualitativa:

Ausência de coliformes totais/ 100mL

Ausência de *E. coli*/ 100mL

b- Prova quantitativa:

Coliformes: <1,1NMP/ 100mL

E. coli: <1,1NMP/ 100mL

- Havendo crescimento:

a- Prova qualitativa:

Presença de coliformes totais/100 mL

Presença de *E. coli*/ 100 mL

b- Prova quantitativa:

Coliformes: (indicar contagem conforme tabela) NMP/ 100mL

E. coli: (indicar contagem conforme tabela) NMP/ 100mL

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:

- Amostras suspeitas de alto grau de contaminação, devem ser diluídas, 1:2 até 1:1.000 com água destilada estéril.
- Tempo longo entre a coleta da amostra e análise. Ao utilizar amostras coletadas 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.
- Incubação em temperatura inadequada.
- Utilização de amostras transportadas inadequadamente.
- Interpretação equivocada de resultados.
- Técnica de assepsia inadequada.
- 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.
- A não utilização de lâmpadas apropriadas pode ocasionar falsos resultados negativos ou positivos.
- Erro na conservação do produto pode ocasionar umedecimento do meio e alteração das propriedades dos componentes.
- Após abertas as embalagens, os componentes tornam-se suscetíveis a contaminações químicas ou microbianas que podem inviabilizar sua utilização.
- Manter os pacotes sempre fechados de maneira a evitar alterações nos componentes.
- Os reagentes se destinam ao uso *in vitro*, não devendo ser ingeridos ou entrar em contato com a pele e mucosas;
- Erro na conservação dos reagentes.
- Deve-se evitar o uso de materiais que possam contaminar os reagentes, tais como frascos para a reação.
- Não averiguar a sensibilidade do método.
- Não utilizar a proporção amostra reagente sugerida na técnica.
- Utilizar frascos que emitem fluorescência.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- Materiais necessários

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

- Controle de qualidade recomendado:

Cepas		Resultado esperado
Produtividade qualitativa <i>E. coli</i> ATCC 25922	Inóculo 10-100 UFC/ 35,0±2°C/ 24h	crescimento bom, com viragem para cor amarela e fluorescente sob luz UV
Produtividade qualitativa <i>E. cloacae</i> ATCC 13047	Inóculo 10-100 UFC/ 35,0±2°C/ 24h	crescimento bom, com viragem para cor amarela e não fluorescente sob luz UV
Seletividade qualitativa <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Inóculo ≥ 1.000.000 UFC / 35,0±2°C/ 24h	Inibição
Seletividade qualitativa <i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	Inóculo ≥ 1.000.000 UFC / 35,0±2°C/ 24h	Inibição
Seletividade qualitativa - <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Inóculo ≥ 1.000.000 UFC / 35,0±2°C/ 24h	Inibição
Meio não inoculado	Grânulos beges a amarelados, fluindo livremente.	

- Periodicidade

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

- Análise dos resultados

As cepas inoculadas no material devem apresentar características de crescimento esperados. Caso se constate algum problema ou diferença, os resultados de amostras clínicas 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 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

1. ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução RDC nº 275 de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico de Características Microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural. D.O.U. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005.
2. APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th Ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2015.
3. APHA. Standard methods of water and wastewater. 23rd. Ed. Washington, 2017.
4. Brasil. Farmacopeia Brasileira, volume 1 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.
5. CODEX ALIMENTARIUS. Code of hygienic practice for collecting, processing and marketing of natural mineral waters (CAC/RCP 33-195, Revisão 2011). Rome: FAO, 2011. FAO/WHO Food Standards Program.

6. Ministério da Saúde, Portaria de consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017.

7. 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: Casemiro de Abreu, 521

Pinhais/PR CEP 83.321-210

Telefone (41) 3661-9000

www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:










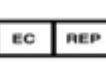














Maire Wakamori – CRF/PR-20176

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 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)