

ACQUAPLUS II ; FLM

Kit para controle microbiológico da água (testes para quantificação de coliformes totais e fecais)

NOME TÉCNICO

KIT PARA CONTROLE MICROBIOLÓGICO DA ÁGUA

APRESENTAÇÃO

Caixa com 10 testes – Cód. PA150 (Contém 2 Bliстер FLM Pó c/ 5 Flaconetes; 10 Saco Plástico Estéril 120mL c/ Tiossulfato; 10 Seringa descartável estéril 10 mL tipo luer slip; 50 Tubo 15x100mm PS tampado estéril vol. 10 mL).

FLM blister c/ 5 flaconetes – Cód. PA352

FLM sachê c/ 5 flaconetes – Cód. PA357

Saco Plástico Estéril 120mL c/ Tiossulfato – Cód. PA377

COMPOSIÇÃO

Formulação	g/L
Peptona Especial	5,0
Sorbitol	1,0
Cloreto de Sódio	5,0
Hidrogeno Fosfato Dipotássico	2,7
Dihidrogenofosfato de potássio	2,0
Lauril Sulfato de Sódio	0,1
Substrato cromogênico	0,08
Substrato fluorogênico	0,05
IPTG	0,1

REGISTRO NO MINISTÉRIO DA SAÚDE:

ISENTO

ARMAZENAMENTO

Conservar o produto sob refrigeração (2° a 8° C).

Válido por 360 dias após a fabricação. (exceto PA150 = 180 dias)

Verificar o prazo de validade na embalagem.

Nunca utilizar produtos com validade expirada.

TRANSPORTE

O produto pode ser transportado em temperatura ambiente (10 a 30° C) por até 120 horas.

CUIDADOS ANTES DO USO

Por tratar-se de material estéril, manusear o produto utilizando equipamentos de proteção individual (luvas, avental e máscara) em ambiente com assepsia de preferência em cabine de segurança biológica classe II.

Não usar materiais com selo de qualidade rompido ou violado.

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS COM O PRODUTO

Reativo de Kovacs (PA233/PA234/PA235)

Luz ultravioleta (UV) de comprimento longo (365 nm)

Estufa bacteriológica

INFORMAÇÕES TÉCNICAS**- FINALIDADE**

Os kits ACQUAPLUS I e II tem metodologia descrita no **Standard methods of water and wastewater**, 23rd Ed. e devem ser utilizados para atender as exigências para o controle de qualidade microbiológico da água para consumo humano, estabelecidos pela Portaria 2914, de 12 de dezembro de 2011, (PRC nº 5, de 28 de setembro de 2017, Anexo XX) do Ministério da Saúde e para o controle de qualidade microbiológico da água purificada.

O Kit Acquaplus I realiza a pesquisa simultânea de coliformes totais e fecais em amostras de água. A metodologia utilizada é a técnica de presença ou ausência (PA) de coliformes.

A detecção dos coliformes totais é baseada na hidrólise de um substrato cromógeno (X-Gal), contido no meio FLM, uma vez que mais de 98% das cepas de coliformes totais possuem a enzima galactosidase, que degrada aquele substrato. A adição de uma substância indutora do operon *lac* amplifica a síntese da enzima galactosidase e intensifica a sua atividade. Isto resulta num aumento significativo da sensibilidade do teste. Já os coliformes fecais são identificados pela hidrólise de um substrato fluorogênico - *MUG* (Metil-Umbeliferil-Galactosídeo) - e pela prova do indol. O crescimento de bactérias gram - positivas é inibido no caldo FLM.

- AMOSTRA

Água para consumo humano, encanada ou de poço, água envasada (mineral), gelo e água purificada.

- TÉCNICA DE USO**AMOSTRAGEM**

- Água potável de rede e água purificada: Limpar a área externa dos pontos de coleta com álcool etílico 70% friccionando por 1 minuto a área, deixar a água escorrer de 2 a 3 minutos, para eliminar toda a coluna de líquido na canalização. Diminuir a fluxo de água para evitar respingos e coletar aproximadamente 100 mL da água (até a marca indicada no saco de coleta). Fechar o saco (dar três voltas na estrutura aramada e dobrar as abas para o centro) e enviá-lo dentro de duas horas para a análise. Caso isto não seja possível a amostra deve ser refrigerada por no máximo 24 horas a uma temperatura de 2 a 8° C.

- Para coleta de outros tipos de amostra consulte literatura especializada.

INOCULAÇÃO

Homogeneizar a amostra por inversão pelo menos 25 vezes. Em uma câmara de fluxo laminar (câmara asséptica ou próximo a um bico de Bunsen) abrir o saco de coleta ou a garrafa de água mineral e acrescentar todo o pó contido no tubo com caldo FLM desidratado. Homogeneizar até a dissolução do pó e com o auxílio da seringa descartável estéril, transferir 10 mL para cada um dos 5 tubos 15x100mm PS tampado estéril. O aparecimento de cristais, logo após a reconstituição do caldo, não interfere nos resultados.

INCUBAÇÃO

A amostra depois de inoculada deve ser incubada por 24 a 48 horas em estufa microbiológica a 35 ± 2° C.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Decorridas as primeiras 24 horas de incubação observar os tubos. Se não ocorrer desenvolvimento de cor incubar a amostra por mais 24 horas. Caso tenha ocorrido mudança da coloração inicial (incolor) para uma tonalidade verde azulada a amostra é positiva para coliformes totais. Neste caso o saco deve ser observado sob luz ultravioleta (UV) de comprimento longo (365 nm) em ambiente escuro. Se a amostra fluorescer indica também a presença de coliformes fecais na amostra. Além disso, pode-se adicionar 5 gotas do reativo de Kovacs aos tubos fluorescentes. O aparecimento de uma cor vermelho-rósea dentro de 5 minutos indica que a bactéria é produtora de indol, confirmando assim a presença de coliformes fecais. Caso o tubo não apresente fluorescência, o mesmo deve ser incubado por mais 24 horas e a leitura deve ser repetida.

Caso o tubo, após 48 horas de incubação, apenas ficar verde e não apresentar fluorescência conclui-se que há presença apenas de coliformes totais e ausência de fecais. Se o tubo não adquirir cor verde, ou seja, se apresentar límpida ou até mesmo turva, não há indício da presença de coliformes tanto totais quanto fecais. Nestes casos a leitura da fluorescência e revelação do indol é desnecessária e não deve ser realizada.

Obs.: A alcalinização da amostra com algumas gotas de NaOH 1N pode intensificar a fluorescência de amostras duvidosas. Caso a amostra necessite ser incubada por mais tempo ou venha a ser utilizada para outros fins (repique, etc.), separar uma alíquota de 10 mL da amostra e proceder a alcalinização. A leitura da fluorescência e, se necessário, a adição de NaOH devem ser feitos antes da revelação da prova do indol. Esta ordem deve ser seguida porque o reativo de Kovacs é ácido e diminui a intensidade da fluorescência, prejudicando a leitura.

A presença tanto de coliformes totais quanto de fecais pode ser ocasional e deve ser confirmada através da repetição da análise. A confirmação da presença de coliformes requer uma revisão minuciosa no sistema de abastecimento e/ou purificação de água por profissional especializado para a detecção e correção do problema.

Após leitura dos cinco tubos de cada amostra reportar-se à tabela abaixo para saber qual o Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais presentes naquela amostra (vide exemplo).

Obs.: A alcalinização da amostra com algumas gotas de NaOH 1N intensifica a fluorescência de amostras duvidosas, especialmente em casos onde já houve incubação por 48 horas e a dúvida permanece. Caso a amostra necessite ser incubada por mais tempo, ou será utilizada para outros fins (repique, etc.), separar uma pequena porção (p.ex.: 5 mL) da amostra e proceder a alcalinização. A leitura da fluorescência e, se necessário, a adição de NaOH devem ser feitos antes da revelação da prova do indol. Esta ordem deve ser seguida porque o reativo de Kovacs é ácido e diminui a intensidade da fluorescência, prejudicando a leitura.

Tabela de Número Mais Provável

Nº de tubos positivos	NMP/ 100 mL	Limite de confiança
00	<1.1	0-3.0
01	1.1	0.05-5.9
02	2.2	0.26-8.1
03	3.6	0.69-10.6
04	5.1	1.3-13.4
05	≥ 6.9	2.1-16.8

Fonte: APHA, 1999 (tabela 9221.III)

EXEMPLOS DE RESULTADOS

A- Se na amostra em análise apenas um dos cinco tubos ficou verde-azulado e nenhum tubo apresentou fluorescência após 48 horas de incubação observa-se, de acordo com a tabela, o seguinte resultado:

Coliformes totais - NMP: 1.1/100 mL; Coliformes fecais - NMP: <1.1/100 mL (Negativo).

B- Se cinco tubos ficaram verde-azulados e destes três apresentaram fluorescência, temos:

Coliformes totais - NMP: 6.9/100 mL; Coliformes fecais - NMP: 3.6/100 mL

Obs.: Caso exista a necessidade de ser determinado o NMP com maior precisão recomenda-se o uso de outras baterias de diluições além da de 10 mL (p. ex.: 1 mL, 0.1 mL). Para a interpretação dos resultados com estas baterias de diluições vide tabela específica na literatura (APHA, 1999. Tabela 9221.IV).

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

A produção da enzima galactosidase é praticamente exclusiva dos coliformes totais. Entretanto algumas raras cepas de bactérias não pertencentes a este grupo podem produzir tal enzima. Quanto ao MUG, 96% a 98% das cepas de *E. coli* dão resultados positivos. Já a produção de indol é detectada em 98 a 99% das cepas de *E. coli*. Havendo necessidade de confirmação definitiva do resultado, isto pode ser feito isolando a bactéria presente no caldo em uma placa de ágar MacConkey (PA15) ou Ágar Teague (PA34) e proceder à identificação bioquímica no Kit de Identificação para Enterobactérias (PA118/PA119/PA124).

DESEMPENHO DO PRODUTO:**- ESPECIFICIDADE**

Escherichia coli e coliformes totais.

- LIMITE DE DETECÇÃO

100 UFC/mL

DESCARTE DO PRODUTO E DA AMOSTRA

Descartar o produto e a amostra de acordo com o programa de gerenciamento de resíduos do laboratório.

* Para o produto sem contato com a amostra seguir o plano de gerenciamento de resíduos químicos.

* Para a amostra e produto com amostra seguir plano de gerenciamento de resíduos infectantes ou possivelmente infectantes.

* Após incubação o produto deverá ser autoclavado a 121° C por 30 minutos e descartado em lixo apropriado.

CONTROLE DE QUALIDADE

ANÁLISES	RESULTADO ESPERADO
Aspecto	Meio âmbar claro
Desempenho Microbiológico <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 Inóculo ~ 100 UFC	Turvação sem fluorescência e indol negativo
Desempenho Microbiológico <i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883 Inóculo ~ 100 UFC	Turvação verde azulada sem fluorescência e indol negativo
Desempenho Microbiológico <i>E. coli</i> ATCC 25922 Inóculo ~ 100 UFC	Turvação verde azulada com fluorescência e indol positivo
Esterilidade	Ausência de crescimento

GARANTIA DA QUALIDADE

Este produto é fabricado e liberado para venda após testes de controle de qualidade para cada lote, conforme normas das Boas Práticas de Fabricação e Controle de produtos para diagnóstico de uso *in vitro*.

Para eficácia do produto é necessário:

- Utilizar amostras clínicas coletadas, transportadas e armazenadas de acordo com a indicação da literatura especializada;
- Seguir rigorosamente todas as etapas descritas nesta instrução de uso.
- Utilizar acessórios e equipamentos adequados e em boa conservação.
- Transportar e armazenar o produto de acordo com as condições indicadas.
- Nunca utilizar produtos com a embalagem original danificada.
- Nunca utilizar produto com prazo de validade expirado.

Caso ocorra qualquer problema na utilização do produto relativo à qualidade intrínseca do mesmo, que tenha ocorrido por falha de fabricação comprovada, a **Newprov** resolverá a questão sem ônus ao cliente, conforme determinado na Lei 8.078/90 – Código de Defesa do Consumidor.

A Newprov disponibiliza aos seus clientes, assessoria técnico-científica para quaisquer esclarecimentos necessários quanto a utilização deste produto que não estejam contemplados nesta instrução de uso, através de contato com o SAC - Serviço de Atendimento ao Consumidor.

Certificados de análise de cada lote estão disponíveis na empresa e podem ser encaminhados ao cliente sempre que solicitados ao SAC ou acesso pelo site www.newprov.com.br após cadastro no campo de acesso restrito.

A versão atual da instrução de uso encontra-se disponível no site www.newprov.com.br. Na necessidade da versão impressa, solicitar sem custo adicional (inclusive de envio) ao nosso SAC pelo (41) 38881300 ou sac@newprov.com.br.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) 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 nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: Ministério da Saúde.
7. Ministério da Saúde, **Portaria de consolidação nº 5**, de 28 de setembro de 2017.
8. SILVA, de Neusely; et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**, 5ª ed. São Paulo: Blucher 2017.

PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO DE USO *IN VITRO*

Fabricado e distribuído por:

Newprov Produtos para Laboratório Ltda

Rua 1º de Maio, 590/608 - Centro - CEP: 83323-020 - Pinhais - PR

CNPJ: 73.636.391/0001-09

Responsável Técnica:

Bárbara Pereira Albini – CRF/PR 19057

Indústria Brasileira

Serviço de Assessoria e Soluções de excelência em análises laboratoriais

SAC: 41 38881300 – sac@newprov.com.br