

INTRODUÇÃO

A Placa de contagem de *Enterobacteriaceae* (EB) é um sistema de meio de cultura pronto para uso. Ele utiliza tecnologia inovadora, como sistemas de difusão rápida e coloração microbiana de nova geração, para obter rápida proliferação e interpretação de colônias, melhorando consideravelmente a eficiência da detecção no laboratório.

A placa contém meio pré-fabricado, agente em formato de gel solúvel e indicador TCC (cloreto de tetrafenil-tetrazólio). Destina-se à contagem de *enterobacteriaceae* em alimentos, matéria-prima e amostras ambientais (linha de processamento de alimentos).

A Meizheng Bio-Tech Co., Ltd é certificada pela Organização Internacional de Padronização (ISO) 9001 para desenvolvimento e fabricação.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

1. Pegue 25 mL (g) de amostra em um saco de amostra estéril, adicione 225mL de diluente Use diluentes tamponado de butterfield estéril. Homogenize e obtenha uma solução de amostra 1:10:

a) Para a amostras líquidas, as soluções de estoque podem ser usadas diretamente para inoculação:

b) Para superfícies de aço inox, pré-umedecida o swab com 10mL de solução diluente (para área amostral de 100cm², procedendo coleta com esfregaço 10 vezes, nas direções: diagonal, vertical e horizontal). Após a amostragem, os swabs devem ser devolvidos aos recipientes e mantidos à temperatura ambiente (20 a 25°C) por no mínimo 2 horas. Um volume de 90mL de diluente pode ser adicionado;

Observação: não utilize diluente contendo citrato, bissulfato ou tiosulfato com as placas MicroFast, pois podem inibir o crescimento.

2. Misture ou homogenize completamente a amostra com 1 parte de amostra e 9 partes de diluente (esquema de diluição 1:10). Para crescimento e recuperação ideais de microrganismos, o pH da suspensão da amostra deve ser ajustado para pH 6,5 a 7,5. Para produtos ácidos = ajuste pH com NaOH 1N. Para produtos alcalinos = ajuste o pH com HCl 1N.

3. Prepare diluições decimais de amostras homogeneizadas, transferindo 1mL da amostra para um tubo de ensaio contendo 9mL de diluente estéril e misture completamente. Com base no tipo da amostras, selecione 2 ou 3 soluções de amostra diluída adequadamente, que resultarão na faixa contável para o tipo de placa MicroFast selecionada.

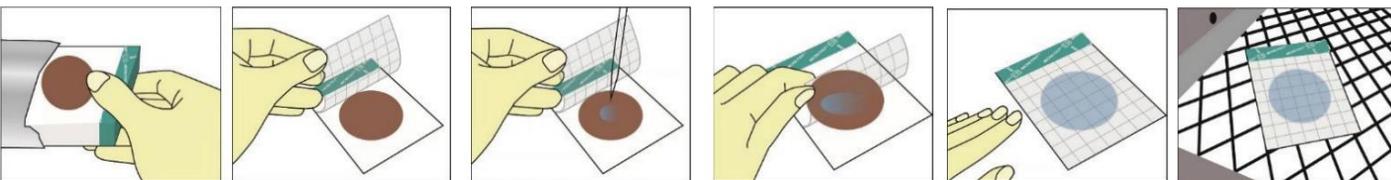
PROCEDIMENTO OPERACIONAL

1. Com o auxílio de uma tesoura, e utilizando os EPIs adequados, abra a embalagem, retire do pacote apenas as placas que pretende utilizar no momento. Coloque-as em uma superfície plana e nivelada, previamente desinfetadas;

2. Levante o filme superior, sem tocar na área que contém o meio de cultura;

3. Com a pipeta na posição vertical, inócupe 1mL da solução da amostra, previamente preparada, no centro da placa (área circular);

4. Solte o filme superior lentamente sobre a amostra e a solução se espalhará automaticamente. Aguarde 1 minuto para mover as placas, tempo necessário para que a solução de espalhe uniformemente por toda a superfície da placa;



INCUBAÇÃO

Incube as placas MicroFast na posição horizontal com o filme para cima em pilhas de no máximo 20 placas, a 36 ± 1°C por 18 a 24h.

INTERPRETAÇÃO

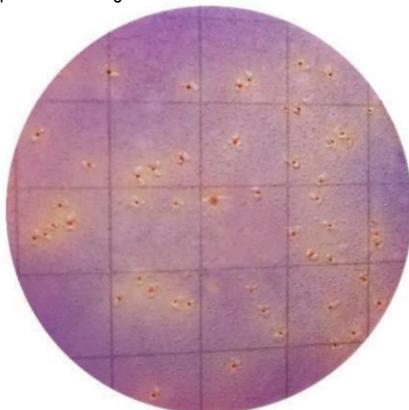
1. As placas de MicroFast podem ser contadas visualmente usando um contador de colônias padrão ou outra lupa iluminada, contar todas as **colônias vermelhas e amarelas com halos amarelos, com ou sem bolhas**;

2. O tamanho aproximado da área de crescimento circular é de 20 cm². As estimativas podem ser feitas nas placas contendo entre 15 a 150 colônias, contando o número de colônias na área de crescimento circular. Utilize como unidade de medida usada para estimar o número de bactérias viáveis, a Unidade Formadora de Colônias (UFC);

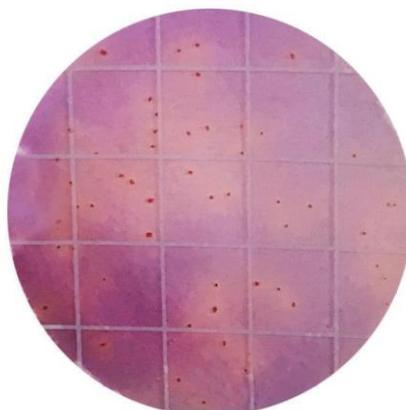
3. As estimativas podem ser feitas nas placas contendo mais de 150 colônias contando o número de colônias em 2 ou mais quadrados representativos e determinando o número médio por quadrado. Multiplique o número médio por 20, para determinar a contagem estimada por placa;

4. Altas concentrações de colônias nas placas, farão com que toda a área de crescimento apareça **descolorida**. Registro este resultado como incontável;

5. Quando for necessário uma contagem, avalie o desempenho da próxima diluição. Se houver colônias bem características e visíveis na próxima diluição e dentro da faixa de contagem, conte-as e registre-as. Se houver contagem de colônias, a placa de contagem pode ter sido contaminada ou a matriz da amostra influenciou negativamente o crescimento microbiano na placa de contagem.



Colônias positivas produtoras de gás



Colônias positivas não produtoras de gás

INSTRUÇÕES DE INTERPRETAÇÃO: PRODUÇÃO DE GÁS - COLIFORMES

- As colônias que produzem bolhas (gás) podem ser interpretadas como positivas nos seguintes exemplos:
 - Duas colônias podem ser conectadas a uma bolha;
 - Uma colônia pode ser conectada com uma bolha ou 2-3 bolhas ou múltiplas bolhas;
 - As bolhas podem ser geradas ao redor das colônias e não estão conectadas às colônias;
 - Bolhas e colônias está na mesma posição, o que pode quebrar as colônias e fazer com que as colônias cresçam nas bordas das bolhas;
- Bolhas causadas por outros motivos (não produzidas por colônias):
 - Bolhas serão geradas devido à operação inadequada. Neste momento, as bolhas não estão conectadas com as colônias, as bordas são irregulares.
 - Amostras ricas em espuma causarão bolhas nas placas de contagem.

ARMAZENAMENTO

- O prazo de validade da placa é de 18 meses, utilize dentro do prazo. O número do lote pode ser encontrado na embalagem;
- Os componentes das placas são esterilizados. As placas devem ser mantidas em suas embalagens originais e fechadas sob temperatura de 2 a 8°C. Antes do uso, retire-a da refrigeração para ambientação de temperatura e evitar condensação;
- Depois de abrir a embalagem, mantenha a embalagem fechada (use fita adesiva ou clip de vedação), armazene-a sob o abrigo do sol, temperatura entre 20 a 25°C, utilize-a dentro de 1 mês (30 dias);
- Ao transportar ou armazenar por curto período, armazene a placa em temperatura ambiente.

VALIDAÇÃO AOAC

- Leite de vaca cru, leite pasteurizado (2% de gordura), manteiga, requeijão, leite achocolatado e aço inoxidável (inox 304), escovado certificado NSF, foram certificados no estudo do método de desempenho do AOAC Research Institute;
- A MicroFast EB demonstrou desempenho equivalente ao ISSO 21528-2:2017, Microbiologia da cadeira alimentar – Método horizontal para detecção e enumeração de enterobacteriaceae - Parte 2: Método de Referência da técnica de contagem de colônias.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- O usuário deve ler, entender e seguir todas as informações de segurança nas instruções, antes de usar.
- As placas de contagem MicroFast, devem ser descartadas de acordo com os procedimentos para produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos. O usuário deve utilizar EPIs adequados, incluindo entre outros: luvas descartáveis, jalecos de laboratório e protetor para os olhos, durante o manejo de amostras e reagentes do kit.
- Lave bem as mãos após manusear amostras e reagentes. É responsabilidade de cada laboratório lidar com os resíduos e efluentes produzidos de acordo com seu tipo e grau de periculosidade, tratando-os e descartando-os (ou mandar trata-los e descarta-los) de acordo com as regulamentações locais, estaduais e federais;
- Siga todas as diretrizes de armazenamento do produto incluídas neste encarte. Não use após a data de validade;
- As análises com as placas MicroFast deve ser realizada em laboratório equipado profissionalmente, sob a supervisão de um microbiologista qualificado. O usuário deve treinar a sua equipe nos métodos de teste atuais;
- As placas são indicadas apenas para aplicação em indústrias para análise de alimentos de amostras ambientais. Use dentro do escopo sugerido;
- Os resultados de contagem das MicroFast podem não ser iguais aos do ágar;
- A placa não foi avaliada com todos os possíveis produtos alimentícios, processos alimentícios, protocolos de teste ou com todas as possíveis cepas de microrganismos;
- Como precaução geral, limpe as estações de trabalho com o desinfetante de sua escolha, antes e depois, além de ter áreas de trabalho separadas para o seguinte: preparação de meios, preparação de amostras e contador de placas. Luvas e outros EPIs devem ser sempre usados;
- A placa de contagem pode conter microrganismos que podem ser um potencial risco biológico. Siga os padrões atuais da indústria para descarte;
- Mantenha a placa longe de luz solar direta e lâmpadas fluorescente;
- Não use placa poluída ou contaminada.

LIMITAÇÃO DE GARANTIA

Resultados precisos dependem do uso adequado do kit, seguindo cuidadosamente as instruções de uso. Se o kit não funcionar de acordo com as especificações, entre em contato com seu representante de vendas da Meizheng.

LIMITAÇÃO DE RESPONSABILIDADE DA MEIZHENG

A Meizheng não será responsável por quaisquer perdas ou danos, sejam danos diretos, indiretos, especiais, incidentais ou consequentes, incluindo, entre outros, lucros cessantes, em nenhum caso a responsabilidade da Meizheng sob qualquer teoria legal excederá o preço de comprar do produto supostamente defeituoso.

RESPONSABILIDADE DO USUÁRIO

Os usuários são responsáveis por seguir as instruções e informações do produto. Para obter mais informações, entre em contato com o revendedor ou distribuidor Meizheng no Brasil.

Ao escolher um método de teste, observe que fatores externos, como métodos de amostragem, protocolos de teste, preparação de amostras, manuseio e técnica de laboratório, podem ter impacto nos resultados.

Ao selecionar um método de teste ou produto, é dever do usuário avaliar um número suficiente de amostras com as matrizes e desafios microbiológicos adequados, para garantir que o método de teste escolhido atenda aos critérios do usuário. Também é obrigação do usuário, garantir que quaisquer métodos e resultados de teste atendam aos critérios de seus clientes/fornecedores. Os resultados adquiridos com o uso de qualquer produtos Meizheng, como qualquer outro método, não podem garantir a qualidade das matrizes ou processos testados.