

ENTEROBACTERIACEAE / β-GLUCURONIDASE

OBJECTIVOS DO TESTE

As placas de contacto Hygicult E/β-GUR destinam-se à detecção presumível de bactérias pertencentes à família das *Enterobacteriaceae* e identificação de espécies que produzem β-glucuronidase.

A placa está revestida num dos lados com Agár VRB modificado (Violet Red Bile Agar com adição de glucose) que permite o crescimento de bactérias pertencentes às *Enterobacteriaceae* como colónias de cor vermelha. A glucose também permite o crescimento de outras espécies como colónias de cor vermelha.

O outro lado da placa está revestido com Agár incolor de β-Gur. As espécies que produzem β-glucuronidase podem crescer neste lado da placa como colónias castanhas.

O teste pode ser efectuado no local da recolha para a monitorização de diferentes tipos de materiais quer sólidos quer líquidos. Também podem ser usadas como meio de transporte adequado de amostras.

Nota: As concentrações microbianas normais da água potável são geralmente demasiado baixas para ser detectadas com o método Hygicult.

CONSTITUINTES DO KIT

Hygicult E/β-GUR	Cat. Nº 68267
Tubo estéril com placa	10 unidades
Etiqueta	10 unidades
Instruções de utilização	1 unidade

FÓRMULA TIPO

Agár VRB modificado	Agár β-GUR
Peptona	Lauril sulfato de sódio
Extracto de leveduras	8-hidroxiquinolina glucuronide
Cloreto de sódio	Extracto de leveduras
Lactose	Vitaminas
D Glucose	Cloridrato de cisteína
Sais biliares	Sulfato de magnésio
Vermelho neutro	Sais biliares
Violeta cristal	Cloreto de manganésio (II)
Agar Agar	Citrato de ferro (II)
Água	Agar Agar
	Água

AVISOS E PRECAUÇÕES

Não utilizar o produto após a data de expiração marcada no kit.

Não utilizar o kit se verificar:

- Descoloração ou desidratação do meio de crescimento;
- Destacamento do meio de crescimento da placa plástica;
- Evidências de crescimento bacteriano ou fúngico.

Não tocar no meio com crescimentos de colónias dado que podem ser potencialmente patogénicas.

ARMAZENAMENTO

Guardar o kit à temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C) protegido de correntes de ar, variações de temperatura e fontes luminosas.

Evite armazenar junto a fontes emissoras de calor. Não congelar.

A data de validade (ano/mês/dia) está marcada na caixa e na tampa de cada tubo estéril.

AMOSTRAGEM

É importante que as superfícies de agár da placa não estejam em contacto com outro material que aquela que se pretenda analisar.

Por outro lado é importante que o meio de crescimento faça contacto completo com o material a testar.

A placa deve ser retirada com cuidado do tubo estéril e imediatamente utilizada no material a controlar.

Depois de recolher a amostra guardar a placa no tubo fechando-o completamente.

Inoculação por contacto (Fig. 1A, 1B)

Superfícies sólidas podem ser testadas pressionando firmemente durante 3 ou 4 segundos cada lado da placa contra a superfície. A placa deve ficar fixa durante o contacto. A possibilidade de dobrar a lâmina facilita a sua utilização.

Imersão (Fig. 2)

As amostras líquidas são testadas mergulhando a placa durante 3 ou 4 segundos. Absorver as últimas gotas em papel absorvente.

Zaragatoa (Fig. 3)

Os materiais ou objectos semisólidos que são difíceis de alcançar podem ser testados passando cuidadosamente uma zaragatoa estéril sobre uma área delimitada usando por exemplo uma grelha. Se o objecto está seco, a zaragatoa deve ser primeiro humidificada com água estéril. A zaragatoa humidificada também pode ser usada para obter amostras de pós (exemplo: especiarias) ou fluidos viscosos.

Depois de recolher a amostra da área seleccionada com a zaragatoa, rolá-la gentilmente sobre a superfície de agár da placa de contacto da esquerda para a direita e de baixo para cima.

Incubação (4)

Incubar a placa no tubo bem fechado a 35 – 37 °C durante 24 a 48 horas.

Hygicult® E/β-GUR

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS (Fig. 5)

Retire a placa do tubo após incubação e determine a contagem microbiana (unidades formadoras de colónias – ufc) comparando a densidade de crescimento na placa com o quadro de referência.

As bactérias pertencentes às *Enterobacteriaceae* crescem no agár VRB modificado como colónias vermelhas. A glucose também permite que outras bactérias gram-negativas (Ex: da espécie *Pseudomonas*) cresçam como colónias vermelhas. Os organismos β-glucuronidase-positivos crescem neste agár como colónias castanhas de várias formas. Como a coloração de algumas estirpes a altas densidades (10^{6-7} ufc/mL) pode ser fraca, qualquer forma acastanhada é indicativa de crescimento de β-glucuronidase-positivos. A actividade de β-glucuronidase é encontrada em cerca de 90% de estirpes de *Escherichia coli*. Algumas espécies de *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Shigella* e *Yersinia* também são produtoras de β-glucuronidase.

O crescimento de organismos gram-positivos é inibido em ambos os lados da placa.

Os valores seguintes podem ser considerados como uma base de trabalho referencial para a avaliação do grau de contaminação.

	Inoculação por contacto (ufc/lado)
Limpo	0
Contaminado	1 - 10
Muito contaminado	> 10

A presença de *Enterobacteriaceae* em alimentos cozinhados indica sempre um mau manuseamento do produto ou higiene inadequada.

LIMITAÇÕES DA METODOLOGIA

O Hygicult CF quando usado como sistema de contacto equivale em sensibilidade ao método de placa de contacto, enquanto que os procedimentos por imersão e zaragatoa têm um limite de detecção de 1000 ufc/mL.

A concentração microbiana total permitida para a água de beber é demasiado baixa para ser detectada com exactidão pelo método Hygicult CF.

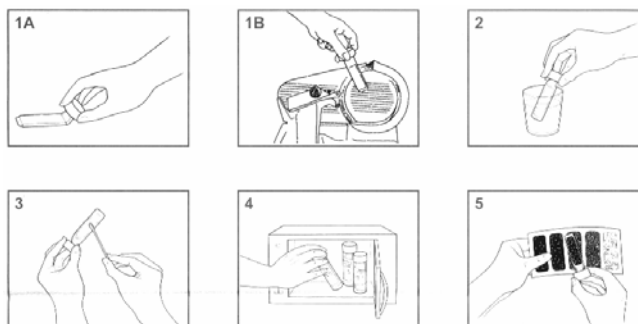
Resultados obtidos com diferentes sistemas de inoculação não devem ser comparados. Só podem ser feitas comparações válidas entre resultados obtidos com a mesma técnica num mesmo material.

DESTRUIÇÃO

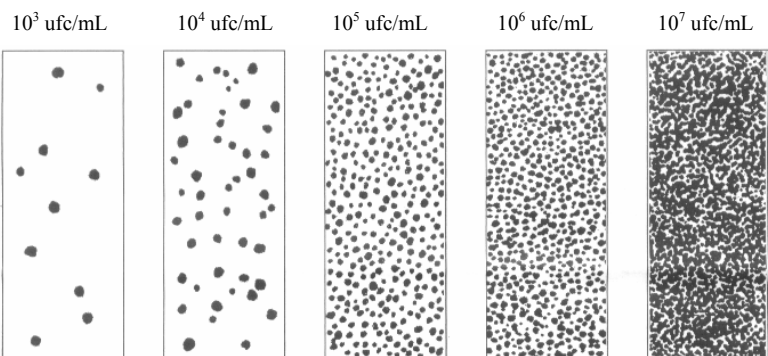
Qualquer crescimento nas placas pode ser patogénico.

A rejeição de Hygicult usados pode ser feita por combustão, autoclavagem ou por imersão num desinfectante apropriado (ex: lixívia) durante uma noite.

FIGURAS E TABELA DE REFERÊNCIA



Líquidos



Superfícies



Nota: a tabela fornece a contagem microbiana aproximada em potências decimais.

Produzido por:

Hygicult® é uma marca comercial registrada da Orion Diagnostica Oy

 **Orion Diagnostica**

Orion Diagnostica Oy
P.O. Box 83, FI-02101 Espoo, Finlândia
Tel. +358 10 4261 / Fax. +358 10 426 2794
www.oriondiagnostica.fi

