



MicroBiologics®

E^{power}™ Microorganisms

Os E^{power}™ Microorganisms são preparações quantitativas de microrganismos. Estas preparações liofilizadas servem como testes de controlo de qualidade quando é necessária uma concentração específica.

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Os E^{power}™ Microorganisms são preparações quantitativas e liofilizadas de microrganismos para utilização em laboratórios industriais para fins de controlo de qualidade.

Um único E^{power}™ Microorganism pode ser utilizado como teste de um microrganismo individual ou podem combinar-se vários E^{power}™ Microorganisms como teste de população mista de microrganismos.

A origem destas preparações de microrganismos pode ser identificada até ao American Type Culture Collection (ATCC®) ou outra colecção de culturas de referência autêntica.

RESUMO E HISTÓRIA

A concepção do processo para esta preparação liofilizada constitui um teste de controlo de qualidade para a verificação de competência, controlo do processo, calibração, validação, eficácia de conservantes e programas de teste de letalidade:

- Para avaliar e documentar o consenso dos resultados do(s) método(s) de teste num grupo de laboratórios
- Para estabelecer e documentar o controlo crítico e os limites de advertência para um método de teste num grupo de laboratórios
- Para validar a exactidão e precisão previstas de um método de teste
- Para documentar a influência de processos letais ou de conservantes numa população de microrganismos
- Para formar, educar e documentar a competência de técnicos de análise para desempenharem as actividades que lhes são atribuídas

O uso de E^{power}™ Microorganisms elimina a tarefa fastidiosa de preparar várias diluições para conseguir testes a baixa concentração ou um intervalo de enumeração.

Esta tecnologia permite ao laboratório de análise simplesmente colocar uma pastilha num caldo de enriquecimento ou diluente primário e prosseguir com os passos subsequentes do procedimento.

PRINCÍPIO

Os E^{power}™ Microorganisms são preparações de microrganismos que incorporam um método de liofilização registado por Y. Obara et.al.. Este método utiliza um meio de suspensão que consiste em gelatina, leite magro, ácido ascórbico, dextrose e carvão vegetal. A gelatina serve de portador para o microrganismo. O leite magro, o ácido ascórbico e a dextrose protegem o microrganismo preservando a integridade da parede celular durante a liofilização e a conservação. O carvão vegetal é incluído para neutralizar quaisquer substâncias tóxicas formadas durante o processo de liofilização.

Uma tecnologia exclusiva produz uma população de microrganismos liofilizados com uma concentração predeterminada.

COMPONENTES DA FÓRMULA

A preparação liofilizada consiste em:

- Uma população quantificada de microrganismos
- Gelatina
- Leite magro
- Ácido ascórbico
- Dextrose
- Carvão vegetal

ESPECIFICAÇÕES E DESEMPENHO

Os E^{power}™ Microorganisms são embalados numa configuração em kit. Cada kit consiste em:

- Um (1) frasco contendo dez (10) pastilhas liofilizadas de uma estirpe individual de microrganismos
- Instruções detalhadas
- Certificado do ensaio

Os E^{power}™ Microorganisms encontram-se disponíveis em diversas concentrações de teste. Estas concentrações são identificadas pelo código que se encontra no final do número de catálogo. Por exemplo:

O número de catálogo 0392E3 identifica uma concentração de teste de 10³ UFC por pastilha. Isto significa que cada pastilha E3 conterá 1.000-9.900 UFC.

O número de catálogo 0392E6 identifica uma concentração de teste de 10⁶ UFC por pastilha. Isto significa que cada pastilha E6 conterá 1.000.000 – 9.900.000 UFC.



A documentação de controlo de qualidade inclui, entre outras, um Certificado de Ensaio indicando:

- A identidade do microrganismo
- A capacidade de identificar a origem do microrganismo até uma cultura de referência
- Que a preparação de microrganismos se encontra a quatro (4) passagens de distância da cultura de referência
- O valor médio do ensaio para a preparação de microrganismos

PRECAUÇÕES E LIMITAÇÕES

Estes produtos destinam-se exclusivamente a utilização *in vitro*. Estes dispositivos, e as colónias subsequentes destes microrganismos em meio de cultura, são considerados como material biológico perigoso. Estes dispositivos contêm microrganismos viáveis que poderão, em determinadas circunstâncias, causar doença. Têm de ser utilizadas as técnicas adequadas para evitar a exposição e o contacto com qualquer colónia de microrganismos.

- O laboratório de microbiologia tem de estar equipado e ter as instalações para receber, processar, manter, conservar e eliminar material biológico perigoso.
- O pessoal do laboratório de microbiologia que utilize estes dispositivos tem de ter formação, experiência e demonstrar competência no processamento, manutenção, conservação e eliminação do material biológico perigoso.
- As autoridades competentes e a legislação regulam efectivamente a eliminação de todos os materiais biológicos perigosos. Cada laboratório tem de estar ciente da forma de eliminação adequada de materiais biológicos perigosos e agir em conformidade.

CONSERVAÇÃO E PRAZO DE VALIDADE

- Conserve os **EPOWER™ Microorganisms** entre 2 °C a 8 °C no frasco de origem, vedado.
- Conservada conforme o indicado, a preparação de microrganismos liofilizados irá reter, até à data de validade indicada no rótulo do dispositivo, as respectivas especificações e desempenho dentro dos limites indicados.

Os **EPOWER™ Microorganisms** não devem ser utilizados se:

- Conservados de forma inadequada
- Houver evidência de exposição excessiva ao calor ou à humidade
- A data de validade tiver sido ultrapassada

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Todos os materiais necessários para a realização de cada método de avaliação ou teste têm de ser fornecidos por cada laboratório.

GARANTIA DO PRODUTO

- Estes produtos têm a garantia de cumprir as especificações e desempenho impressas e ilustradas nos folhetos informativos, instruções e literatura de apoio.
- A garantia, expressa ou implícita, é limitada sempre que:
 - Os procedimentos empregues no laboratórios sejam contrários às indicações e instruções impressas e ilustradas
 - Os produtos forem empregues para aplicações diferentes das indicações mencionadas nos folhetos informativos, instruções e literatura de suporte

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

A. Preparação do material

1. Todos os materiais necessários para o procedimento de teste e os materiais a serem testados têm de estar prontos a serem utilizados imediatamente a seguir ao passo de hidratação.
2. Após a hidratação da amostra liofilizada, a(s) inoculação(ões) de teste TÊM de estar concluídas num prazo de trinta (30) minutos para evitar uma alteração na concentração de UFC de teste em suspensão.
3. O fluido de hidratação TEM de estar aquecido entre 34 °C a 38 °C antes da utilização. Recomenda-se o tampão de fosfato estéril, de pH 7,2 para a hidratação da preparação liofilizada.

B. Hidratação

1. Retire o frasco de pastilhas da conservação refrigerada e deixe equilibrar até à temperatura ambiente.
2. ANTES da utilização, aqueça os fluidos de hidratação e diluição a uma temperatura entre os 34 °C e os 38 °C.
3. Transfira a(s) pastilha(s) de **EPOWER™ Microorganism** para o fluido de hidratação.
4. Coloque a suspensão de microrganismos numa incubadora entre 34 °C a 38 °C durante trinta (30) minutos para garantir a hidratação completa.
5. Imediatamente após a incubação, homogeneíze ou misture cuidadosamente o material hidratado de forma a conseguir uma suspensão homogénea e a distribuição equitativa da estirpe de teste na suspensão hidratada.

C. Teste

1. Proceda imediatamente ao teste segundo o protocolo do laboratório.
2. **O teste TEM de ser concluído no prazo de trinta (30) minutos a partir do processo de hidratação, de modo a evitar uma alteração na concentração da suspensão de teste.**
3. Ao concluir o método de teste, registe os resultados do teste segundo o protocolo do laboratório.

**NOTAS TÉCNICAS****A. Concepção de testes**

EPower™ Microorganisms conseguem suportar a concepção de dois tipos de teste de controlo de qualidade.

1. Uma concepção de teste para os **EPower™ Microorganisms** consiste em seleccionar um único microrganismo ensaiado como um teste individual.
2. Uma outra concepção de teste para os **EPower™ Microorganisms** consiste em combinar mais de um microrganismo ensaiado numa única preparação de teste.

B. Considerações importantes

Têm de observar-se considerações importantes na concepção e uso de um **EPower™ Microorganism** nos testes de controlo de qualidade.

1. Valor médio do ensaio

- O valor médio do ensaio baseia-se em métodos estatísticos sobejamente comprovados. Como parte do procedimento de controlo de qualidade da MicroBioLogics, hidratam-se pastilhas de cada lote de **EPower™ Microorganism** em tampão de fosfato com pH de 7,2. Realizam-se contagens de colónias replicadas em meio de ágar não selectivo, que são enumeradas utilizando um dispositivo automático de contagem de colónias.
- A variabilidade do fluido de hidratação, a amostragem, diferentes técnicas de contagem de colónias, a incubação e o uso de meios de ágar selectivo irão originar contagens de colónias que diferem do valor médio indicado.

2. Prazo de validade e estabilidade

- A garantia do produto está limitada às especificações e desempenho do **EPower™ Microorganism** conservado adequadamente no recipiente (frasco) de origem.
- A exposição ao calor, à humidade e ao oxigénio podem afectar adversamente a estabilidade do valor médio do ensaio. Tanto a reprodutibilidade como a estabilidade assentam na conservação adequada das preparações liofilizadas no frasco de origem, vedado, com dessecante.

3. Teste de analitos

- Se a aplicação (ou seja, teste de competência) exigir uma amostra alimentar, NÃO misture a população de microrganismos liofilizados com a amostra alimentar até IMEDIATAMENTE antes do processamento e teste.
- A potencial exposição a humidade e oxigénio na amostra alimentar pode ter uma influência profunda sobre a estabilidade dos valores do ensaio.
- Excluindo as considerações relativas à humidade e ao oxigénio, as amostras alimentares podem ainda introduzir propriedades inibitórias ou tóxicas que influenciam adversamente a recuperação das populações de microrganismos.
- Uma amostra alimentar pode ainda introduzir uma população intrínseca de microrganismos.

4. Flora de microrganismos concorrentes

- Uma estirpe individual de microrganismos numa população mista pode originar uma influência inibitória ou tóxica sobre os restantes microrganismos da população.

5. Fluido de hidratação e processo de hidratação

- Os microrganismos liofilizados têm de ser hidratados para atingirem a viabilidade. As propriedades intrínsecas dos fluidos de hidratação podem influenciar a recuperação e os valores previstos do ensaio. Recomenda-se um tampão de fosfato com pH de 7,2 para a hidratação.
- A estrutura da pastilha liofilizada é conferida pela gelatina. A gelatina liquidifica quando aquecida. Para liquidificar a gelatina e garantir a hidratação completa e uma suspensão uniforme da população de microrganismos, o fluido de hidratação tem de ser pré-aquecido até a uma temperatura entre 34 °C a 38 °C e a preparação liofilizada tem de deixar-se incubar no fluido de hidratação entre 34 °C a 38 °C durante trinta (30) minutos. Após a hidratação, a suspensão tem de ser cuidadosamente misturada.

6. Restrições temporais

- A hidratação activa a respiração e a actividade metabólica do microrganismo liofilizado. Na ausência de requisitos críticos para o crescimento (ou seja, nutrientes e condições de incubação), a estabilidade da população de microrganismos pode ser afectada.
- Os testes têm de estar concluídos no prazo de trinta (30) minutos após a hidratação.



GUIA PARA A RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

As preparações de **EPower™ Microorganism** são sujeitas a um procedimento validade de ensaio antes da libertação do controlo de qualidade, para garantir que cada lote cumpre as especificações do produto. Os resultados esperados são baseados no número do produto. Por exemplo, um número de catálogo 0483E3 indica que o produto se encontra a 10^3 . Por conseguinte, o número de Unidades Formadoras de Colónias (UFC) por partícula estará entre os 1.000 e os 9.999. Caso se observem resultados fora do intervalo especificado para o produto, devem considerar-se as causas seguintes como possíveis. Toda a literatura referenciada nesta secção encontra-se disponível no nosso sítio na Web, em www.microbiologics.com, bem como no nosso Manual Técnico. Para pedir uma cópia do nosso Manual Técnico, contacte-nos através do número 1-800-599-BUGS (2847) ou enviar um e-mail para info@mbl2000.com.

PROBLEMA	CAUSA POSSÍVEL	RECOMENDAÇÕES
BAIXA RECUPERAÇÃO ou AUSÊNCIA DE RECUPERAÇÃO	1) Uso de meios inapropriados ou selectivos	Nem todos os meios suportam o crescimento de todos os microrganismos. Verificar junto do fabricante do meio caso houver incerteza quanto ao facto de o meio suportar ou não o crescimento do microrganismo. O uso de meio selectivo pode inibir a recuperação do microrganismo. Queira consultar o TIB.134 para informações adicionais relativamente ao uso de meios selectivos.
	2) Tempo de incubação, temperatura, ou atmosfera incorrectas	Os períodos de incubação, temperaturas e condições atmosféricas necessárias não são os mesmos para todos os microrganismos. Queira consultar o TIB.081 para ver os requisitos de crescimento recomendados para cada organismo. Verifique ainda se os termómetros da incubadora estão a fazer leituras correctas.
	3) Conservação inadequada do frasco	Os EPower™ Microorganisms têm de ser conservados a uma temperatura de 2 °C a 8 °C nos respectivos frascos de origem. O pacote de dessecante não deve ser removido. Tem de permitir-se o equilíbrio do frasco até à temperatura ambiente antes da abertura. Caso os frascos sejam abertos a frio, pode acumular-se condensação no frasco. A combinação de humidade e oxigénio pode produzir radicais livres tóxicos que podem reduzir a recuperação dos microrganismos liofilizados.
	4) Uso para além de trinta (30) minutos após o passo de hidratação	Conforme indicado neste folheto informativo (Instruções de Utilização, Secção B), a suspensão de microrganismos hidratados tem de ser utilizada num prazo de trinta (30) minutos. Queira consultar o TIB.160 para obter informação adicional.
	5) Inibição por uma matriz alimentar	O uso de uma matriz alimentar pode introduzir propriedades inibitórias ou tóxicas. Queira consultar o TIB.172 para obter informação adicional. O TIB.172 foi redigido para produtos FPC qualitativos; contudo, é aplicável às aplicações EPower™ utilizando também uma matriz alimentar.
	6) Erro no cálculo da recuperação esperada	O valor médio do ensaio listado encontra-se em concentração por pastilha. À medida que são executadas as diluições, é importante calcular a concentração num determinado volume de diluente. Por exemplo, se uma pastilha com um valor médio de ensaio de $5,0 \times 10^6$ UFC for colocada em 10 ml de tampão de fosfato, a concentração resultante seria de $5,0 \times 10^5$ UFC por ml.
RECUPERAÇÃO ELEVADA	1) Homogeneização insuficiente	Examine a suspensão após homogeneizar. Poderão estar visíveis partículas de carvão vegetal, mas a suspensão deve parecer homogénea, sem pedaços de pastilhas de grandes dimensões restantes.
	2) Uso para além de trinta (30) minutos após o passo de hidratação	Conforme indicado neste folheto informativo (Instruções de Utilização, Secção B), a suspensão de microrganismos hidratados tem de ser utilizada num prazo de trinta (30) minutos. Consultar o TIB.160 para obter mais informações.
	3) Erro no cálculo da recuperação esperada	Se estiver a utilizar mais de uma (1) pastilha, é importante recordar que o uso de duas (2) pastilhas com um valor de ensaio de $2,0 \times 10^3$ UFC resultaria numa concentração inicial de $4,0 \times 10^3$ UFC, e não de $4,0 \times 10^6$ UFC.

Se nenhuma das situações indicadas anteriormente for aplicável e a recuperação estiver ainda fora do intervalo necessário para o produto, contacte o nosso Departamento de Serviços Técnicos através do telefone 1-800-599-BUGS(2847) ou do e-mail indprdts@mbl2000.com para obter assistência adicional.



LIMPEZA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS PERIGOSOS

Em caso de fuga ou derrame acidentais do dispositivo ou de ocorrência de crescimento subsequente do organismo em ágar ou em meio de cultura, a informação seguinte descreve os materiais e procedimentos que irão facilitar a limpeza em segurança do material biológico perigoso.

1. **Folha de dados de segurança do material (*Material Safety Data Sheet, MSDS*)**

- Deve ser mantido um ficheiro de todos os documentos MSDS para materiais biológicos perigosos.
- O ficheiro MSDS tem de estar disponível para todos os funcionários.
- Todos os funcionários têm de estar cientes da localização dos ficheiros MSDS.

2. **Conjunto para derrame de materiais biológicos perigosos**

Estão disponíveis conjuntos para derrame de materiais biológicos perigosos junto de fontes comerciais, ou, em alternativa, podem ser feitos com os materiais seguintes.

- Uma garrafa de um litro de solução aquosa germicida
- Um par de luvas descartáveis de látex e/ou sem látex
- Um par de pinças
- Um saco para material biológico perigoso, com fecho
- Um pacote ou rolo de toalhas de papel

3. **Procedimento**

- Notificar **TODAS** as pessoas que trabalhem na área imediatamente adjacente ao incidente.
- **NÃO** deixar a área sem supervisão (a menos que seja a única pessoa que se encontre na área). Nomear outro funcionário para vigiar a área do incidente e desviar o trânsito da área do incidente.
- Após a notificação de todos os funcionários na área imediatamente adjacente, recolha o Conjunto para Derrame de Materiais Biológicos Perigosos e regresse **IMEDIATAMENTE** à área.
- Calce as luvas descartáveis.
- Com as pinças, pegue em tanto material quanto possível e coloque cuidadosamente os materiais no Saco para Materiais Biológicos Perigosos.
- Sature a área do derrame com solução germicida.
- Mantenha a área do derrame húmida com a solução germicida durante o tempo apropriado, conforme indicado na solução germicida utilizada.
- Limpe a área com as toalhas de papel.
- Coloque todas as toalhas de papel utilizadas no Saco para Materiais Biológicos Perigosos.
- Após a limpeza, retire cuidadosamente as luvas e coloque-as no Saco para Materiais Biológicos Perigosos.
- Vede o Saco para Materiais Biológicos Perigosos.
- Elimine o Saco para Materiais Biológicos Perigosos em conformidade com os requisitos regulamentares.

LEGENDA DOS SÍMBOLOS



Código do Lote (Lote)



Materiais biológicos perigosos
Riscos biológicos



Número do catálogo



Cuidado, consulte os documentos inclusos
Atenção, consulte as instruções de utilização



Fabricante



Limitação de temperatura



Prazo de validade



CONTROLO DE QUALIDADE

Este produto é desenvolvido, fabricado e distribuído por:

- Em conformidade com as regras da FDA: *Quality System Regulation (QSR), 21CFR Part 820*
- Em conformidade com os elementos da norma ISO 9001:2000

As funções de controlo de qualidade poderão incluir, entre outras:

- características de pureza e de crescimento
- características morfológicas
- actividade bioquímica
- valor médio do ensaio
- a identidade e capacidade de identificar a origem da preparação de microrganismos até uma cultura de referência
- o número de passagens em que a preparação de microrganismos se afasta da cultura de referência

A decisão de efectuar um controlo de qualidade adicional é da responsabilidade de cada laboratório individual.

REFERÊNCIAS

A referência seguinte cita a base para o método de liofilização utilizado nestas preparações de microrganismos.

1. Y. Obara, S. Yamai, T. Nikkawa, Y. Shimoda, and Y. Miyamoto. 1981. *J. Clin. Microbiol.* 14:61-66.

Cada laboratório deve explorar referências fidedignas dirigidas a disciplinas específicas de microbiologia para uso das preparações de microrganismos liofilizados.

SÍTIO NA WEB

Visite o nosso sítio na Web para consultar informações técnicas actualizadas e a disponibilidade do produto.

www.microbiologics.com

AGRADECIMENTOS



MicroBioLogics, Inc
217 Osseo Avenue North
St. Cloud, MN 56303 EUA
Tel. +1 320 253 1640
Fax. +1 320 253 6250
E-mail: info@mb12000.com



O emblema autorizado de derivados da ATCC, a marca da palavra autorizada de derivados da ATCC e as marcas de catálogo ATCC são marcas comerciais da ATCC. A MicroBioLogics, Inc. está autorizada a utilizar estas marcas comerciais e a vender produtos derivados de culturas ATCC®.