

MEIOS PARA ANÁLISE DE ÁGUA PROBAC - CLOSTRIDIUMBAC

Clostridium perfringens

Indicações: O *Clostridium perfringens* é um bacilo Gram positivo, esporulado, anaeróbio estrito, redutor de sulfitos. Sua presença em águas é um excelente indicador de contaminação fecal. Como seus esporos apresentam grande resistência e longevidade, sua detecção é útil para a verificação de contaminação fecal remota, quando outro indicador como a *Escherichia coli* (coliforme fecal), que tem menor sobrevivência, não está mais presente.

Sua ausência é um bom indicador da ausência de vírus e bactérias patogênicas em águas de consumo humano.

A legislação brasileira no regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de água mineral e água natural determina um máximo de 2,0 UFC (unidades formadoras de colônias) ou 2,2 NMP (Número Mais Provável) em 100 mL destas águas. O ideal seria a ausência destas bactérias.

Para realizar esta pesquisa a Probac do Brasil idealizou um sistema que permite de forma fácil e segura determinar a presença ou ausência destas bactérias e em caso positivo determinar o NMP.

Características dos componentes: O sistema está constituído por dois frascos:

- O frasco com **meio seletivo e enriquecido Probac para *Clostridium perfringens***, desidratado e esterilizado para ser reconstituído com 100 mL da amostra de água. Este meio é seletivo e diferencial para clostrídios sulfito redutores.
- O frasco inferior esterilizado demarcado para 100 mL da amostra de água.

Procedimento: - Ativar a amostra submetendo-a a um choque térmico para destruir as formas vegetativas e ativar a formação de esporos aquecendo-a durante 10 minutos a 75°C.

- Coloque a amostra no frasco inferior até o local marcado para medir 100 mL da amostra.
- Coloque o meio seletivo em pó no frasco inferior já com os 100 mL da amostra.
- Coloque a tampa e com suaves movimentos permita que o meio desidratado se dissolva totalmente na amostra.
- Colocar o frasco com **tampa semi-rosqueada** no interior do envelope plástico (impermeável ao oxigênio).
- Ativar o gerador de anaerobiose colocando 4 mL de cada lado de água de torneira.
- Fechar o envelope com o clamp.
- Incubar o frasco à 35°C ± 2°C por 24 a 48 horas.

Interpretação do resultado: - Realizar leituras em 24 horas ou "overnight" e se negativas reincubar por mais 24 horas, totalizando 48 horas de incubação para a amostra ser considerada como negativa. Se negativo após 48 horas de incubação o resultado deve ser emitido como ausência de *Clostridium perfringens* em 100 mL da amostra examinada.

- Se positivo em 24 ou 48 horas:

- A presença de crescimento bacteriano com escurecimento do meio indica a provável presença de *Clostridium perfringens*.
- Para confirmar a presença da bactéria colocar 0,1 mL do meio em um tubo contendo Leite Tornosolado* (com indicador) a 35°C ± 2°C por 24 a 48 horas em atmosfera de anaerobiose com tampa semi-rosqueada
- O aparecimento de coagulação do leite, com rompimento do coágulo (produção de gás) e acidificação (viragem do meio para cor amarelada) confirmam o diagnóstico de *Clostridium perfringens*.

Procedimento Quantitativo: Frascos com meio seletivo desidratado Probac para determinação do Número Mais Provável (NMP). Simultaneamente a confirmação do microrganismo isolado deve-se quantificar o crescimento das amostras positivas. Proceder como na técnica dos tubos múltiplos.

- Colocar uma segunda alíquota de 100 mL da mesma amostra já identificada como positiva no frasco e adicionar o meio seletivo para *Clostridium perfringens* Probac.
- Agitar até completa dissolução do meio desidratado.
- Agitar vigorosamente o frasco para distribuição homogênea das bactérias.
- Após homogeneização distribuir em 10 tubos estéreis colocando 10 mL em cada tubo.
- Colocar os tubos com as **tapas semi-rosqueadas** no interior do envelope plástico (impermeável ao oxigênio).
- Ativar o gerador de anaerobiose colocando 4 mL de cada lado de água de torneira.
- Fechar o envelope com o clamp.
- Incubar o frasco à 35°C ± 2°C por 24 a 48 horas.
- Observar o número de tubos positivos (amostras positivas ficam turvas e escurecidas).
- De acordo com esse resultado, consultar a Tabela de NMP e informar o resultado quantitativo, por exemplo, dois tubos positivos indicam um NMP de 2,2 UFC/mL.

Apresentação: Caixa com 20 frascos com meio desidratado*, 20 frascos estéreis, 20 geradores de anaerobiose e 20 envelopes plásticos.

*Nota: Os frascos com o meio desidratado podem apresentar variações de altura, porém o peso do meio mantém-se constante.

Produtos vendidos separadamente para confirmação de *Clostridium perfringens*: Caixa com 12 tubos de Leite Tornosolado**, clamp, gerador de anaerobiose e envelope plástico.

** O Leite Tornosolado já possui o indicador em sua composição.

Conservação: Manter a temperatura ambiente entre 15° e 25°C, ao abrigo da luz. **Validade:** 6 meses.

Precauções: Após o uso, o produto deverá ser descartado conforme as recomendações vigentes para resíduos de serviços de saúde.

Referência Bibliográfica: -Silva N.; Neto,R.C; Junqueira, V.C.A; Silveira, N.F.A. - Manual de métodos de análise microbiológica da água, Editora Livraria Varela-2005.- Portaria nº518 25/03/04- Ministério da Saúde, Brasil.

SOMENTE PARA USO "IN VITRO" Rev.: 04

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.

Rua Jaguaribe, 35 – Sta.Cecília - São Paulo – SP - CEP: 01224-001

Fone: 55 11 3367-4777 - Fax: 55 11 3223-8368

CNPJ 45.597.176/0001-00 - Insc. Est. 110.485.842.111

Site: www.probac.com.br E-mail: probac@probac.com.br