

P&D AQUA coli – ONPG/MUG

Instruções de uso

Indicações

Deteção quantitativa e qualitativa de coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água por de substratos enzimáticos específicos que possibilitam a recuperação e a identificação desses microrganismos presentes na água.

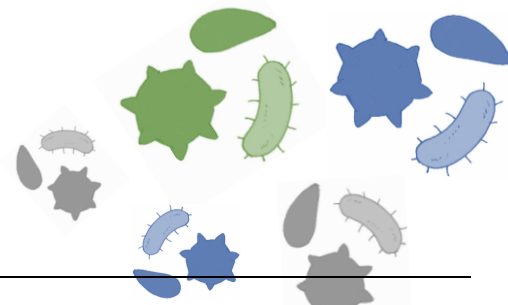
Tipo de amostras de água: bruta, tratada, salobra, salgada e efluente, superficial, subterrânea e água de reuso

Princípio

Este método se baseia na utilização de um substrato específico, que permitem a pesquisa simultânea de coliformes totais e de *Escherichia coli* em menor tempo. Os testes são baseados na atividade da β -galactosidase sobre o substrato ONPG (O-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo) e da β -D-glicuronidase sobre o substrato MUG (4-metilumbeliferil- β -D-glicuronídeo).

Método aprovado segundo as diretrizes estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira e Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater (APHA/AWWA/WEF) para detecção simultânea de coliformes totais e *Escherichia coli* pelo método de cromogênico.

O teste baseia-se na adição dos substratos em 100 ml de amostra de água, seguido de incubação de 35°C a 37°C por 24 horas. A atividade dos coliformes totais sobre o substrato ONPG produz uma coloração amarela, indicando a sua presença. A presença da *Escherichia coli* pode ser confirmada por fluorescência sob a luz ultravioleta (UV) (365 nm), devido sua atuação sobre o substrato MUG. A sensibilidade da metodologia para *Escherichia coli* é de 1 UFC/100ml de amostra. A especificidade para não-coliformes é 10^6 UFC/100mL. Pode ser utilizado em cartelas estéreis de 51 ou 97 cavidades para contagens de até 200NMP/100ml ou 2.419NMP/100ml, respectivamente, conforme 9223 ENZYME SUBSTRATE COLIFORM TEST - 4th edition of Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.



Componentes

Componentes	g/L
Nutrientes e sais minerais	19,4
Substratos cromogênicos	0,6

Informações importantes

- Produto para uso laboratorial.
- Utilizar de acordo com as instruções.
- Todas as amostras devem ser manipuladas como potencialmente infecciosas e destruídas de acordo com as normas de biossegurança.
- Não reutilizar.
- Não utilizar após o prazo de validade.
- Armazenar em temperatura ambiente (15° a 30°C).
- Não congelar.
- validade informado na embalagem.

Procedimento

1. Equipamentos e materiais necessários

- Estufa de incubação 35°C a 37°C.
- Recipientes estéreis para coleta com 100 ml de capacidade.
- Frascos que não emitam fluorescência quando expostos à luz ultra-violeta de 365 nm, com capacidade para 100 mL.
- Comparador de cor.
- Câmara de Luz UV 365 nm.

2. Procedimento

2.1 Coleta de amostra

- **Tipo de amostra:** águas de poços, fontes, água mineral, reservatórios, sistemas de distribuição e determinação da eficiência operacional de uma estação de tratamento de águas e outras amostras de águas.
- As amostras devem ser coletadas em recipientes estéreis e testadas o mais rapidamente possível. Do contrário, manter em geladeira (2-8°C) por até 24h.
- Proceder à amostragem de 100 ml de amostra em recipiente estéril seguindo como descrito abaixo:

Água clorada: acrescentar 0,1 ml de solução de Tiossulfato de Sódio a 10%.

Água in natura: acrescentar 0,2 ml de solução de EDTA 15% objetivando quelar metais presentes na amostra que possam interferir no desenvolvimento analítico.

- Procedimentos assépticos devem ser adotados para a realização da coleta.
- Análise as amostras o mais rápido possível após sua chegada ao laboratório.

3. Procedimento técnico

3.1 Teste qualitativa

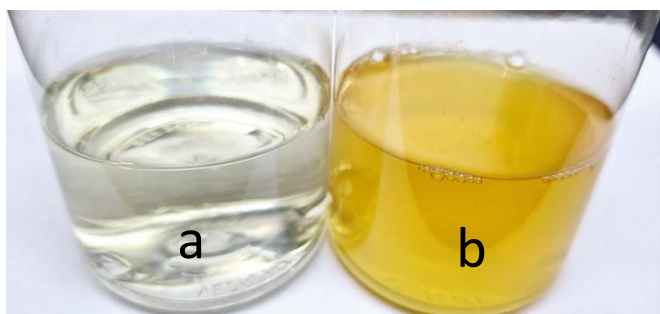
- Abrir o sachê contendo o substrato cromogênio e acrescentar todo o conteúdo no frasco contendo 100 ml de amostra da água.
- Agitar suavemente até que ocorra a diluição completa e a homogeneização do meio.
- Incubar o frasco teste em estufa a 35° a 37°C durante 24h.

3.1.1 Leitura e interpretação do teste

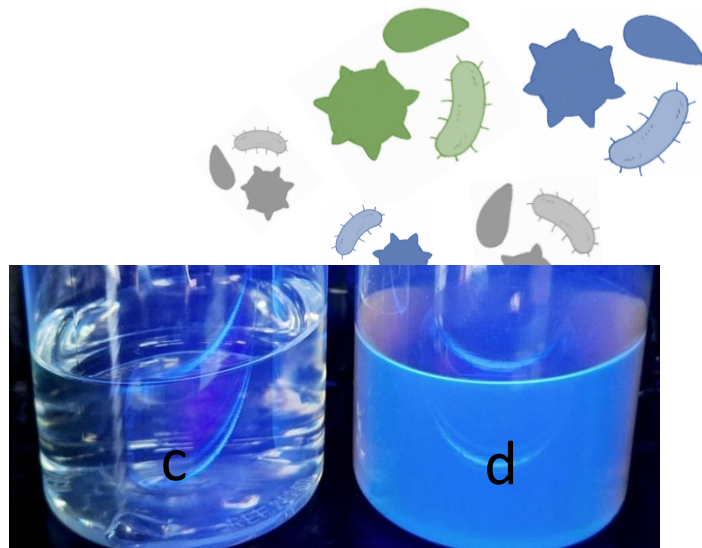
- Coliformes totais e *Escherichia coli* negativo:** A amostra permanece inalterada e sem turvação indica.
- Coliformes totais positivo:** A amostra desenvolve coloração amarela.
- Escherichia coli* positivo:** A amostra desenvolve cor amarela e é observada fluorescência azul esverdeada quando exposta a luz UV 365nm, em ambiente escuro.

Importante: Não utilizar frascos de vidro, pois os mesmos emitem fluorescência e interferem na interpretação do teste.

Interpretação dos resultados



Coliformes totais: a) Negativo; b) Positivo



***Escherichia coli*:** c) Negativo; d) Positivo

3.2 Teste quantitativo

- Abrir o sachê contendo o substrato cromogênio e acrescentar todo o conteúdo no frasco contendo 100 ml de amostra da água.
- Agitar suavemente até que ocorra a diluição completa e a homogeneização do meio.
- Despejar a amostra na placa *Quanty P&D*
- Fechar a placa utilizando uma seladora e verificar se não há vazamentos e incubar em estufa a 35°C durante 24 horas.
- Após a incubação, conte o número de poços que apresentaram resultado positivo (mudança de cor ou fluorescência).
- A Fluorescência pode ser avaliada com luz UV 365nm, em ambiente escuro.
- Utilize a tabela de Número Mais Provável (NMP) fornecida para determinar a concentração de bactérias na amostra original, conforme o tipo de cartela de referência que estiver disponível e adequada ao uso.

4. Liberação dos Resultados

4.1 Não houve crescimento

- Prova qualitativa**
 - Ausência de coliformes totais/ 100ml
 - Ausência de *Escherichia coli*/ 100ml
- Prova quantitativa**
 - Coliformes totais: <1,1 NMP/ 100ml
 - *Escherichia coli*: <1,1 NMP/ 100ml

4.2 Havendo crescimento

- Prova qualitativa**
 - Presença de coliformes totais/100ml
 - Presença de *Escherichia coli* / 100ml
- Prova quantitativa**
 - Coliformes totais: (indicar contagem conforme tabela) NMP/ 100ml.

- *Escherichia coli*: (indicar contagem conforme tabela) NMP/ 100ml.

Limitações

- Resultados falso positivo ou negativo podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:
- Elevado grau de contaminação, sem diluição prévia.
- Tempo longo entre a coleta da amostra e análise.
- Incubação em temperatura inadequada.
- Transporte inadequado da amostra.
- Erro de leitura e interpretação.
- Utilização de materiais contaminados.
- Utilização de material vencido.
- Utilizar frascos que emitem fluorescência.

Controle de qualidade

Microrganismo	Concentração	Resultado esperado
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	10-100 UFC	Crescimento e viragem de cor para amarelo/laranja. Na luz UV fluorescência azul.
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13883)	10-100 UFC	Crescimento e viragem de cor para amarelo
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	>10 ⁶ UFC	Inibição completa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	>10 ⁶ UFC	Inibição completa

Validade



1 ano após data de fabricação

References bibliográficas

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução RDC n° 275 de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnica 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.

APHA. Standard Methods Committee of the American Public Health Association, American Water Works Association, and

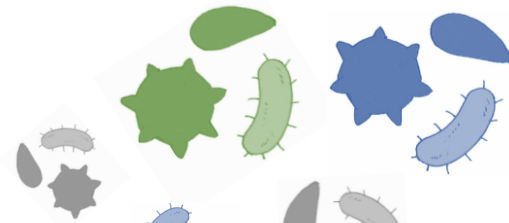
P&D BIOTECH Ltda.

Rua Girassol, 334 – Campina Verde – Contagem (MG) – CEP: 32150-270

3/3

CNPJ 36.819.732/0001-55 - Insc. Estadual 003704444.00-61

www.pdbiotech.com.br / comercial@pdbiotech.com.br / Tel./WhatsApp: +55 31 2564-0924



Water Environment Federation. 9223 enzyme substrate coliform test In: Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater. Lipps WC, Baxter TE, Braun-Howland E, editors. Washington DC: APHA Press.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia brasileira: volume I / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – 7. ed. Brasília: ANVISA, 2024.