

## Ampola m-Green Levedura e Caldo Fungi, 2 mL m-Green Yeast and Fungi Broth, 2 mL (6505)

### Uso Previsto

Ampola m-Green Levedura e Caldo Fungi, 2 mL é utilizado para a detecção de leveduras e fungos em bebidas, através do processo de filtração por membrana.

### Sumário e Explicação do Produto

Ampola m-Green Levedura e Caldo Fungi, 2 mL é um meio preparado, pronto para o uso em testes de filtração por membrana. O Caldo Levedura e Bolor m-Green é uma modificação aprimorada da fórmula Caldo m-Levedura e Bolor. A adição de Verde de Bromocresol auxilia na identificação e é absorvido pelas colônias de fungos. Caldo Levedura e Bolor m-Green é uma fórmula relativamente complexa comparada aos outros meios utilizados para o isolamento de fungos e leveduras. Este caldo também é rico em nutrientes, fornecendo um ambiente para o crescimento excelente de fungos.

Fungos têm sido encontrados em água potável e na superfície interna de tubos dos sistemas de distribuição.<sup>1</sup> Eles podem sobreviver aos tratamentos de água ou entram no sistema após o tratamento, permanecendo viáveis.<sup>1</sup>

### Princípios do Procedimento

Digestão Enzimática de Caseína e Digestão Enzimática de Tecido Animal fornecem nitrogênio, carbono e aminoácidos no Caldo m-Green Levedura e Caldo Fungi. Extrato de levedura é a fonte de vitamina. Dextrose é a fonte de energia para o metabolismo dos fungos. Fosfato de Potássio é o agente tamponante. Sulfato de Magnésio, Tiamina e Diástase (uma mistura contendo enzimas amilolíticas (amido)) fornecem íons essenciais, minerais e nutrientes. Subprodutos metabólicos provenientes do crescimento dos fungos difundem no meio ao redor, reduzindo o pH, na qual inibe o crescimento bacteriano e produz uma reação ácida que causa uma mudança na coloração residual de Verde de Bromocresol para amarelo, constatando a reação ácida. As colônias são verdes devido à difusão do Verde de Bromocresol nas colônias.

### Fórmula/Litro

Digestão Enzimática de Caseína.....	5 g
Digestão Enzimática de Tecido Animal .....	5 g
Extrato de Levedura.....	9 g
Dextrose.....	50 g
Sulfato de Magnésio .....	2,1 g
Fosfato de Potássio .....	2 g
Diástase .....	0,05 g
Tiamina .....	0,05 g
Verde de Bromocresol .....	0,026 g

pH Final: 4,6 ± 0,2 a 25°C

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para atender as especificações de desempenho.

### Características Físicas

Aparência do meio:	Transparente, verde escuro.
pH a 25°C:	4,6 ± 0,2

### Procedimento do Teste

#### Preparação

1. Monte o Manifold ou frasco de filtração que fornecerá a fonte de vácuo e complete com a rolha de borracha.
2. Com um movimento rotativo, prenda gentilmente o adaptador de funil na rolha de borracha.
3. Usando o mesmo movimento rotativo, prenda gentilmente o Filtro Neogen no adaptador de funil.

## Meio em Ampola

### Procedimento de Filtração

1. Remova a tampa e adicione a amostra cuidadosamente no filtro.
2. Aplique o vácuo o suficiente para que a amostra passe através da membrana (se utilizar um Manifold, abra somente uma válvula de cada vez).
3. Lave o interior das paredes do funil com aproximadamente 20 mL de solução tamponada estéril. Aplique o vácuo o suficiente para que a solução passe através da membrana e desligue o vácuo. Nota: Esta etapa é opcional se estiver testando somente água.
4. Remova o filtro brevemente e o adaptador de funil da rolha de borracha para liberar qualquer pressão remanescente e em seguida conecte o filtro e adaptador na rolha novamente.
5. Adicione Caldo Levedura e Bolor m-Green na superfície da membrana. Cuidado para não tocar a membrana com a ampola.
6. Aplique o vácuo brevemente para evitar que o meio acumule na superfície da membrana. O meio deve ser visível abaixo da membrana. (Nota: A membrana foi embebida corretamente com o meio se houver uma pequena bolsa de ar ao redor da saída inferior. A membrana deve estar úmida mas não super saturada ou seca.)
7. Remova e descarte apropriadamente o funil plástico. Coloque a tampa do sistema de filtração sobre a membrana/dispositivo, convertendo a unidade em uma placa de Petri para a incubação da amostra.
8. Remova o filtro do adaptador de funil e coloque um tampão na saída inferior.
9. Coloque o filtro Neogen invertido na incubadora, de forma que a tampa esteja para baixo e incube a 25–30°C. Leia e registre os resultados após 2 e até 7 dias (veja nota 3 em Limitações do Procedimento).
10. Descarte os materiais do teste de acordo com as regulamentações local, estadual e federal.

### Resposta Esperada de Cultivo:

Água estéril foi adicionada às unidades de filtração estéreis e essas foram inoculadas com as culturas listadas abaixo. O inóculo foi filtrado seguido por Ampola m-Green Levedura e Caldo Fungi e o sistema de filtração removido. As placas foram incubadas aerobicamente a 25–30°C por 2 e até 7 dias (veja nota 3 em Limitações do Procedimento).

Micro-organismo	Inóculo Aproximado (UFC)	Resultados Esperados
Meios não inoculados	NA	Ausência de crescimento
<i>Aspergillus niger</i> ATCC® 16404	50–300	≥ 85% recuperação
<i>Candida albicans</i> ATCC®10231	50–300	≥ 85% recuperação
<i>Penicillium roquefortii</i> ATCC® 10110	50–300	≥ 85% recuperação
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC® 9763	50–300	≥ 85% recuperação
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC® 9533	50–300	≥ 85% recuperação

### Resultados

Todas as colônias que cresceram na superfície da membrana devem ser contadas. Colônias de bolores geralmente têm aparência branca com tonalidade verde e são filamentosas. Colônias de leveduras são de cor creme e opacas.

### Armazenamento

Armazene Ampola m-Green Levedura e Caldo Fungi, 2 mL entre 2–8 °C.

### Validade

Refira-se à data de validade na frente da caixa.

### **Limitações do Procedimento**

1. Analise a amostra logo após a coleta.
2. Amostras que contêm material com partículas coloidais ou suspensas podem entupir o filtro, impedindo a filtração ou podem causar a difusão das colônias microbianas, o que pode interferir com a identificação das colônias.
3. Para estabelecer a ausência de crescimento ou validação interna do procedimento, os filtros podem ser mantidos até 7 dias. Para estabelecer que um resultado de teste esteja completo e que este pode ser registrado para uma recuperação positiva, valide internamente o período de tempo ideal para manter os filtros, testando os organismos recomendados para controle de qualidade, listados na Resposta Esperada de Cultivo. A taxa de crescimento das espécies varia, podendo variar também o período de tempo ideal em que os filtros são mantidos.
4. Algumas espécies de bactérias acidúricas ou adaptadas ao ácido, podem ser ocasionalmente recuperadas neste meio.

### **Embalagem**

**Ampola m-Green Levedura e Caldo Fungi, 2 mL**

**Código Nº 6505 Caixa com 50**

**Filtro Neogen "Branco"**

**Código Nº 6550 Caixa com 50**

**Filtro Neogen "Preto"**

**Código Nº 6555 Caixa com 50**

### **Referências**

1. **Eaton, A. D., L. S. Clesceri, and A. E. Greenberg (eds.)**. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20<sup>th</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

### **Informação Técnica**

Contate a Neogen do Brasil para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone 19.3935-3727.