

*plastlabor*

10

Microbiologics



**FOOD SAFETY  
CONTROLS**

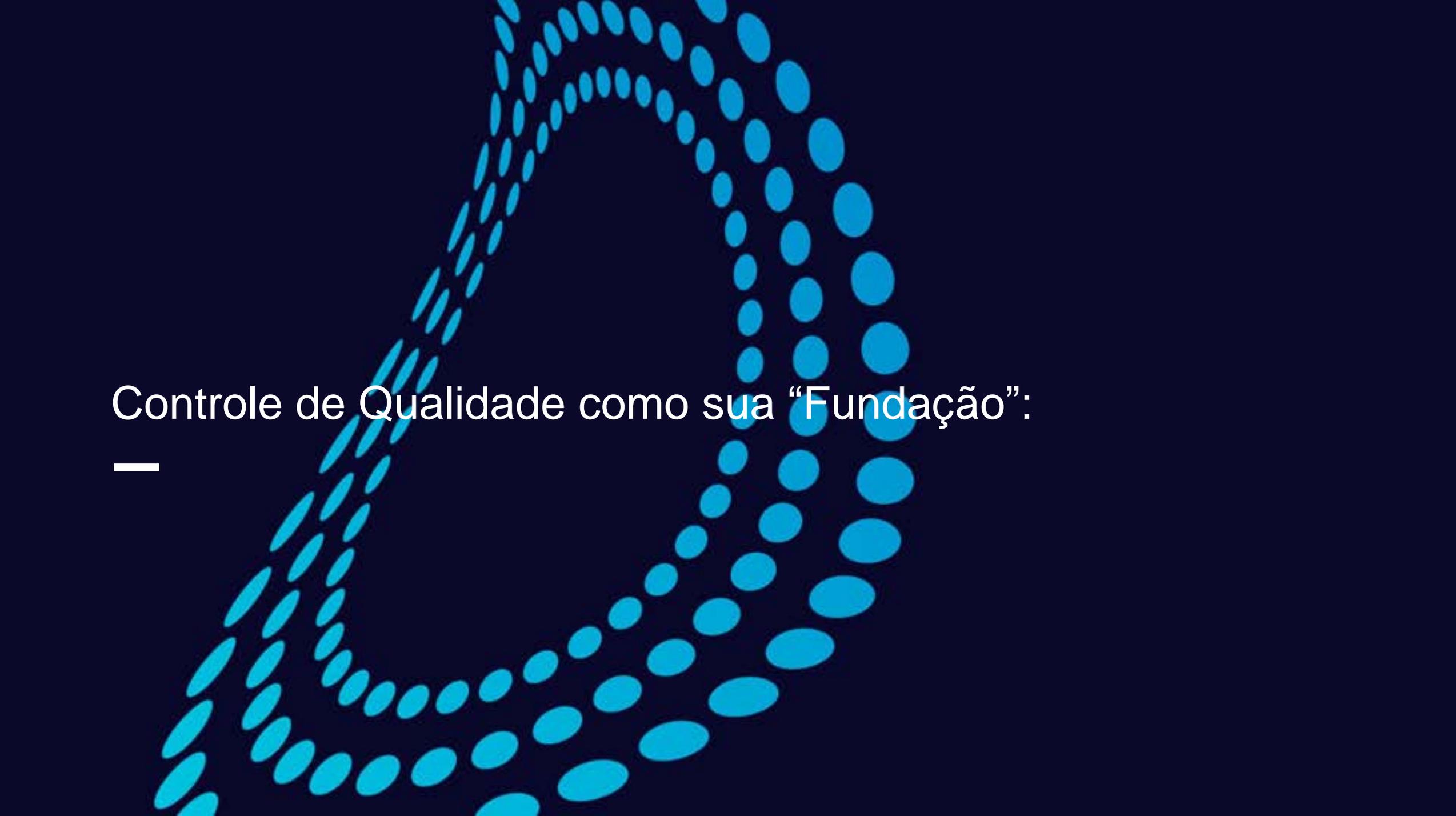
**FOOD SAFETY QC MICROORGANISMS**



**Microbiologics**



- Controle de Qualidade
- Impacto no Consumidor
- Histórico Microbiologics
- Apresentação das Soluções Qualitativas e Quantitativas para o Segmento de Alimentos (Material de Referência)
- Linha de Material de Referência Certificado sob à ISO 17034 para atendimento da Normativa ISO 17025.

An abstract graphic consisting of a series of blue dots of varying sizes, arranged in a curved, upward-sloping path that resembles a stylized letter 'C' or a similar shape. The dots are set against a dark blue background.

Controle de Qualidade como sua “Fundação”:

—

## Quality Assurance Budget



- Sua marca é seu maior patrimônio e seu maior risco. A prevenção e a preparação são as melhores maneiras de evitar recalls de produtos e proteger sua marca.
- Uma pequena parte do seu orçamento de Garantia de Qualidade é gasta em controles microbiológicos, mas eles são a base do seu programa de testes. Sem bons controles, como você pode ter certeza de que seus meios de cultura, métodos de teste, materiais, equipamentos e seus técnicos são capazes de detectar contaminação?

- O Controle de Qualidade, garante não apenas o cumprimento do que é mandatório nas referências, mas acima de tudo, a proteção à vida, à saúde e a segurança dos consumidores, tendo em vista as consequências que um alimento contaminado por microrganismos causaria.

## ✓ RECALLS

Tabela 1- Recall de alimentos contaminados por bactérias e fungos de 2014 a 2019 (parcial).

Ano	Contaminação por bactérias	Contaminação por fungos	Tipos de bactérias	Tipos de fungos	Tipo de produto
2014	1		<i>Bacillus cereus</i>		Achocolatado
2015		1		Fungos filamentosos	Água mineral
2016		3		<i>Aspergillus sp.</i>	Paçoca e amendoim, doce de figo, geleia.
2017	1	2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	Amendoim, Paçoca, Queijo coalho, queijo prato fatiado, muçarela.
2018	4		<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonellas pp</i>		Queijo muçarela fatiado, queijo muçarela peça, água mineral, frango cozido desfiado.
2019	1		<i>Salmonella enteritidis</i>		Cortes congelados, filé de peixe, miúdos, peito sem osso e sem pele.

Fonte: BRASIL, 2019.



“Outbreak” de *E. coli* em 2014 que levou de 2 a 3 anos para ser controlado, além de custos na casa de U\$ 2 bilhões



Blue Bell – 3 mortes - Listeria em Sorvete



Contaminação em melão por Listeria – 3 casos de mortes e outros casos associados.

# Histórico Microbiologics



# DESDE A FUNDAÇÃO DA EMPRESA

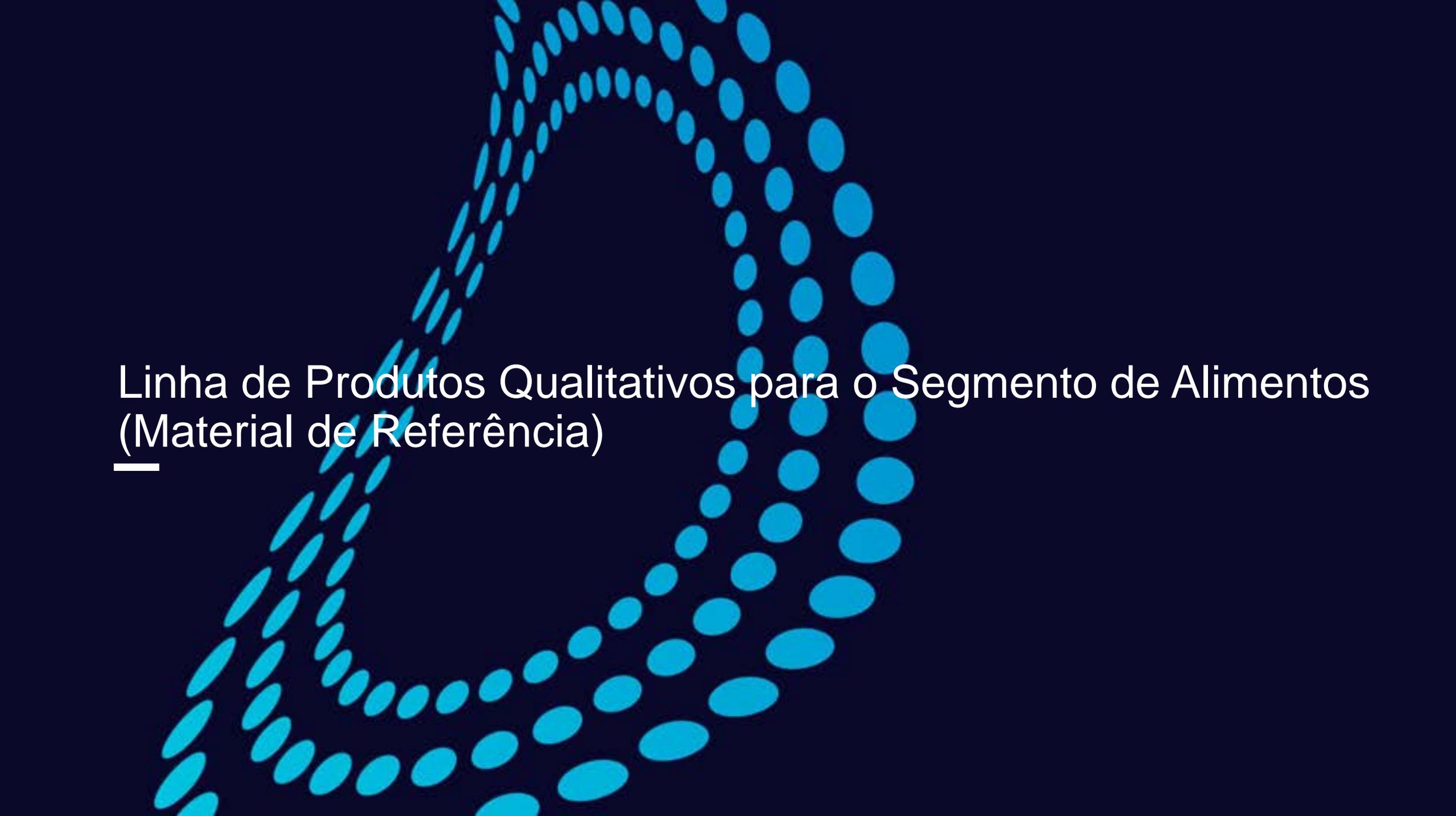


- 1971: Fundada como uma instalação de testes de laboratório especializada em testes de água, expandida para testes de alimentos.
- 1976: Começou a venda e fabricação de meios de cultura preparados
- 1983: Começou as vendas e fabricação de microrganismos liofilizados
- 1988: Começou a expandir a distribuição para mercados internacionais
- 1995: Introdução de produtos enumerados prontos para uso
- **1998: Focado unicamente na fabricação de preparações de microrganismos liofilizados e saída de produtos de meios de cultura preparados.**
- 2008: Granite Equity Partners adquiriu a Microbiologics
- 2009: Microbiologics adquiriu Gibson Laboratories em Lexington, Kentucky
- 2011: Começou a construção de novas instalações em setembro; saiu do negócio de meios de cultura preparados na Gibson
- 2012: Nova instalação inaugurada
- 2013: Diagnóstico de Phthisis Adquirido; lançou divisão molecular
- 2014: Novo laboratório molecular inaugurado em Saint Cloud
- 2017: inauguração de uma expansão de 30.000 pés quadrados; adquiriu a Virapur em San Diego, Califórnia
- 2019: Adquiriu a Micromyx em Kalamazoo, Michigan
- 2020: todos os locais unificados sob nova marca

An abstract graphic consisting of a series of blue dots of varying sizes, arranged in a curved, path-like pattern that starts from the bottom left and curves towards the top right. The dots are set against a dark blue background.

Soluções em Controles de Qualidade

—



Linha de Produtos Qualitativos para o Segmento de Alimentos  
(Material de Referência)

---

- ✓ Mais de 900 cepas disponíveis
- ✓ Formato pronto para uso
- ✓ Rastreabilidade provenientes de 2ª e 3ª geração da Coleção de Cultura de Referência
- ✓ Com Protocolo de Manutenção (Validado)
- ✓ Não há necessidade de identificação ou confirmação diária, quando o Protocolo é seguido
- ✓ Se não congelar, mantém-se a rastreabilidade
- ✓ Armazenamento refrigerado 2 – 8°C
- ✓ Certificado de Análise
- ✓ Suporte Técnico especializado disponível para orientação

**KWIK-STIK Plus**

**KWIK-STIK**

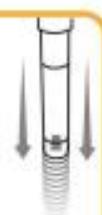
**LYFO DISK**



- 

Permita que a bolsa não aberta do KMW-STIK atinja a temperatura ambiente. Rasgue a bolsa no local indicado e retire a unidade de KMW-STIK.
- 

Retire o laço do rótulo e anexe-o à placa de cultura primária ou ao registro de CQ. Não desmonte o dispositivo durante a hidratação.
- 

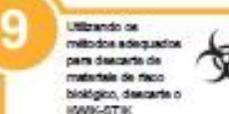
Quebre a ampola na borda de bancada ou mesa na extremidade superior do KMW-STIK (logo abaixo do nível do fluido da ampola) na tampa para liberar o fluido hidratado.
- 

Segure verticalmente e bata em uma superfície rígida para facilitar o fluxo de fluido pelo tubo até o fundo da unidade contendo o pellet.
- 

Com uma mancha de pingamento na porção inferior da unidade, amasse o pellet no fluido até que a suspensão fique homogênea.
- 

Retire, imediatamente, a suspensão intensa do avião com o material hidratado e transfira-o para o meio de ágar apropriado ou utilize-o de acordo com o POP do laboratório.
- 

Inocule a(s) placa(s) de cultura primária(s) ao passar o avião suavemente sobre um terço da placa.
- 

Utilizando uma alça estéril, faça traços para facilitar o isolamento de colônias.
- 

Utilizando os métodos adequados para descarte de material de risco biológico, descarte o KMW-STIK. Incube, imediatamente, a(s) placa(s) de cultura primária(s) invertida(s) e inoculada(s) à temperatura e condições apropriadas para o micro-organismo. 
- 

O método de cultura pode ser encontrado na página do produto no site [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com)

- 

Retire o frasco de LYO-DISK não aberto do armazenamento entre 2°C e 8°C e permita que atinja a temperatura ambiente.
- 

Retire asepticamente 1 pellet com fitaopi estéril do frasco. Não remova o desecante.
- 

Coloque o pellet em 0,5 ml de fluido estéril (água, solução salina, TSB ou SIB). Retorne a tampa e a tampa do frasco, imediatamente, e leve-o de volta à temperatura de 2°C a 8°C.
- 

Amasse o pellet com um avião estéril até que a suspensão fique homogênea. Imediatamente sature abundantemente o avião com o material hidratado e transfira-o ao meio de ágar.
- 

Inocule a(s) placa(s) de cultura primária(s) ao passar o avião suavemente sobre um terço da placa.
- 

Utilizando uma alça estéril, faça traços para facilitar o isolamento de colônias.
- 

Utilizando os métodos adequados para descarte de material de risco biológico, descarte o resíduo do material hidratado. 
- 

Incube, imediatamente, a(s) placa(s) de cultura primária(s) invertida(s) e inoculada(s) à temperatura e condições apropriadas para o micro-organismo. O método de cultura pode ser encontrado na página do produto no site [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com)

## Recommended Culture Methods for Microorganisms

### Selection of Growth Requirements

1. Primary growth on a nonselective agar medium is preferred. Primary growth in a fluid medium should only occur in special instances or when recommended. Because of the manipulations required during hydration, it is difficult to obtain purity of a lyophilized strain in a fluid medium. A contaminant may completely overgrow and obscure the presence of the lyophilized strain.
2. The following information lists which method should be used to grow the various microorganism species. Descriptions of methods follow the microorganism list.

Microorganism	Method	Notes
<i>Acetobacter</i> species	Method 36	
<i>Achromobacter</i> species	Method 1	
<i>Acinetobacter</i> species	Method 1	
<i>Actinobacillus</i> species	Method 3	
<i>Actinomyces</i> species	Method 4	
<i>Aerococcus</i> species	Method 1	
<i>Aeromonas</i> species	Method 2	Exceptions are <i>Aeromonas hydrophila</i> , Microbiologics 0870 and <i>Aeromonas salmonicida</i> .
<i>Aeromonas hydrophila</i> , Microbiologics 0870	Method 31	
<i>Aeromonas salmonicida</i>	Method 32	
<i>Aggregatibacter</i> species	Method 3	
<i>Alcaligenes</i> species	Method 1	
<i>Allicyclobacillus</i> species	Method 12	An exception is <i>Allicyclobacillus acidoterrestris</i> .
<i>Allicyclobacillus acidoterrestris</i>	Method 45	
<i>Allofococcus</i> species	Method 2	
<i>Atemaria</i> species	Method 5	
<i>Anytomycetes</i> species	Method 5	
<i>Anaerobaculum</i> species	Method 1	
<i>Aquaspirillum</i> species	Method 20	
<i>Arcanobacterium</i> species	Method 34	
<i>Arthrobacter</i> species	Method 21	
<i>Aspergillus</i> species	Method 5	An exception is <i>Aspergillus flavus</i> .
<i>Aspergillus flavus</i>	Method 46	
<i>Aureobasidium</i> species	Method 5	
<i>Bacillus</i> species	Method 49	
<i>Bacteroides</i> species	Method 4	
<i>Bifidobacterium</i> species	Method 4	An exception is <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>animalis</i> .
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>animalis</i>	Method 39	
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	Method 15	

3. The following information lists methods for growing microorganisms. When possible, more than one type of agar medium per method is listed.

#### Method 1

Media	Tryptic Soy Agar (Soybean Casein Digest Agar), Nonselective Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar (Plate Count Agar) or Nutrient Agar
Temperature	35°C
Atmosphere	Aerobic
Growth Time	24 to 48 hours

#### Method 2

Media	Nonselective Sheep Blood Agar
Temperature	35°C
Atmosphere	Aerobic
Growth Time	24 to 72 hours

#### Method 3

Media	Chocolate Agar
Temperature	35°C
Atmosphere	5 to 7% Carbon Dioxide
Growth Time	24 to 48 hours

#### Method 4

Media	Anaerobic Blood Agar
Temperature	35°C
Atmosphere	Anaerobic
Growth Time	48 to 72 hours

Note: Some obligate anaerobes may require 5-7 days to demonstrate sufficient growth.

#### Method 5

Media	Sabouraud Dextrose Emmons Agar
Temperature	25°C
Atmosphere	Aerobic
Growth Time	2 to 7 days

Note: Nonselective Sheep Blood Agar is an appropriate alternative. Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar, Potato Dextrose Agar, and Standard Methods Agar (Plate Count Agar) are appropriate alternatives together with an additional period (24 hours) of incubation.

#### Method 6

Media	Chocolate Agar
Temperature	35°C
Atmosphere	Microaerophilic
Growth Time	48 to 72 hours

Note: Do not open the inoculated agar medium petri plate for the first 48 hours.

## Microorganism Maintenance Plan for Laboratories Following ISO 11133

KWIK-STIK™ and LYFO DISK™ products are reference stock cultures derived from reference cultures and preserved by a process called lyophilization. According to ISO 11133, 5.3.3, reference stock cultures are to be “properly maintained and handled in a manner that minimizes the opportunity for cross-contamination, mutation, or alteration of typical characteristics.”

This technical information bulletin provides a month-long maintenance plan for preserving the viability, purity, and genotypic and phenotypic characteristics of a microorganism strain grown from KWIK-STIK or LYFO DISK. The main plan is based on the plan described in Chart B.2 of ISO 11133<sup>1</sup>.

### Getting Started

- After hydration, plate the KWIK-STIK or LYFO DISK on a non-selective agar, and incubate under conditions suitable for the microorganism strain.
- If you are unsure what agar to use, there are three places to find culture methods:
  - ISO 11133, Tables E and F.
  - Microbiologics website, [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com). Recommended culture methods are listed on each strain's webpage.
  - The Technical Information Bulletin, *Recommended Culture Methods*, which is available at [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com)

### Storage of Reconstituted Microorganisms

- Most quality control microorganisms can be maintained on nonselective agar plates or slants for up to four weeks at room temperature or in the refrigerator.
- Microbiologics has found the following storage conditions to be favorable for maintenance:

Category of Microorganism	Storage Conditions
Aerobic Bacteria	Store at 2-8°C. A few species of <i>Bacillus</i> remain viable for a longer period when stored at room temperature.
Yeast and Fungi	Store at room temperature.
Anaerobes	Store in anaerobic conditions at room temperature.
<i>Campylobacter</i> species	Store on chocolate agar at 35°C in microaerophilic conditions.

### Five Reasons Not to Freeze

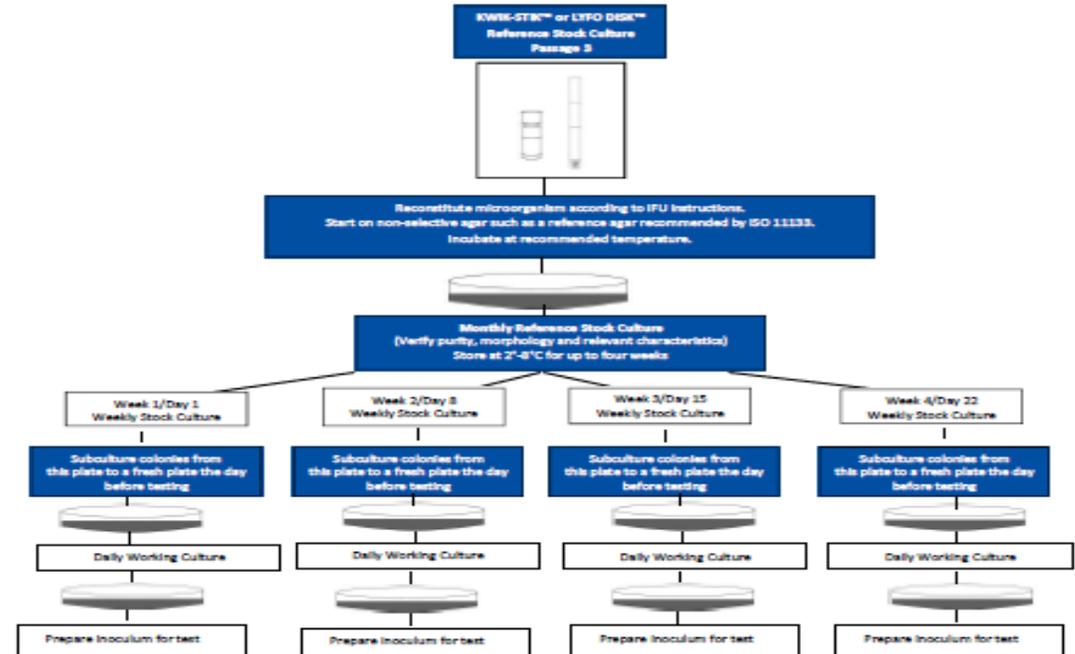
- It is not necessary! Microbiologics has done the hard work of confirming the identity and purity of a strain and preserving it for you.
- Freezing adds a passage. ISO 11133, 5.3.1, says, “The number of transfers of test organisms should be documented to prevent excessive sub-culturing that increases the risk of phenotypic alteration. One passage is defined as the transfer from a viable culture to a fresh medium with growth of the microorganisms. Any form of sub-culturing is considered to be a form of transfer/passage.”
- A -70°C freezer is needed. ISO 11133, 5.3.3, says, “Reference stocks should be stored in multiple portions, usually either deep-frozen, e.g. below -70°C, or lyophilized. At a higher temperature, duration of viability might be reduced and genetic modification might occur.”
- Microbiologics cannot guarantee the typical characteristics of a microorganism if it is frozen. We have not validated the stated characteristics remain the same after the microorganism has been frozen and thawed.
- ISO 11133, 5.3.2, says, “If test microorganisms are obtained from reference collections or commercial suppliers holding ISO 9001 certification or other appropriate certification and maintained in their original containers, the manufacturer's directions for their cultivation and use shall be followed.”

REFERENCES  
ISO 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media

### Tips for Best Performance

- Do not test the original pellet plate for phenotypic characteristics. This is the plate on which the lyophilized pellet was started. The organisms growing on this plate are not fully resuscitated.
- Select isolated colonies for a test. Do not test colonies from a contaminated plate.
- When possible, use microorganisms that are not more than 24 hours old for biochemical tests.
- Microorganisms stored at 4°C should not be used for certain tests (e.g. MALDI-TOF). Consult the manufacturer's instructions.
- After the fourth week, dispose of plates and start the process over with a new lyophilized pellet.
- A microorganism may be used beyond expiry date if (1) the lyophilized pellet is grown before expiry date and (2) the microorganism is not used beyond week four of the maintenance program.

## Microorganism Maintenance Plan for Strains Used in ISO 11133



- ✓ *E. coli*, um produtor da toxina Shiga, é proibido pelo USDA / FSIS em carne bovina crua
- ✓ Encontrada em carne ao redor do mundo
- ✓ Encontrado em vegetais (“surto” de 2011 na Alemanha O104: H4)
- ✓ Microbiologics oferece STEC em um formato preparado de CDC e ATCC®
- ✓ Disponível no KWIK-STIK™ 2 Pack, KWIK-STIK™ 6 Pack e LYFO DISK™
- ✓ Formato pronto para uso

## STEC's

## BIG 6

## BIG 7

## TESTE DE PROFICIÊNCIA

- Available in quantitative and qualitative formats<sup>1</sup>
- Ensures accurate test results
- Supports compliance with USDA/FDA regulations
- Available internationally<sup>1</sup>

STEC Strain	KWIK-STIK™	LYFO DISK™	Epower™	UN-BioTAG™
01100 <i>E. coli</i> serotype O26:H11 derived from CDC 03-3014	•	•	•	
01098 <i>E. coli</i> serotype O45:H2 derived from CDC 00-3039	•	•	•	
01101 <i>E. coli</i> serotype O103:H11 derived from CDC 06-3008	•	•	•	
01102 <i>E. coli</i> serotype O111:H8 derived from CDC 2010C-3114	•	•	•	
01099 <i>E. coli</i> serotype O121:H19 derived from CDC 02-3211	•	•		
01097 <i>E. coli</i> serotype O145:NM derived from CDC 99-3311	•	•	•	
0617 <i>E. coli</i> serotype O157:H7 derived from ATCC® 35150™*	•	•	•	
01104 <i>E. coli</i> serotype O104:H4 derived from ATCC® BAA-2326™*	•	•	•	
01227 <i>E. coli</i> serotype O157:H7 EC43 derived from FDA ESC1177				•

QC Sets and Panels are also available: 5218 Big 6 QC Set and 5219 Big 7 STEC QC Set

<sup>1</sup>Epower™ and UN-BioTAG™ are not intended for clinical use. \*Restrictions may apply by region.

ATCC Licensed  
\*Look for the ATCC Licensed Derivative® symbol for products derived from ATCC® cultures. The ATCC Licensed Derivative symbol, the ATCC Licensed Derivative Word mark, and the ATCC Celling Mark are trademarks of ATCC - Microbiology, Inc. In licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



Não é incomum que amostras de alimentos inadvertidamente sejam contaminadas com cepas de controle usadas em laboratório. Isso leva a resultados falso-positivos que podem ter graves implicações financeiras e regulatórias.

- Contém marcadores de proteína fluorescente verde (GFP), que produz fluorescência na cultura, visível sob luz ultravioleta que torna fácil distinguir cepas de microrganismos padrão de cepas de controle de laboratório.

## UV-BioTAG



Catalog # / Format	Strain	Characterization
01227UV-S / Swab Kit 01227UV-V / Vial Kit	<i>Escherichia coli</i> (O157:H7) EC43 (STEC) derived from FDA EXC 11177 (STEC)	Chloramphenicol (Cm10 <sup>6</sup> ) resistant
01223UV-S / Swab Kit 01223UV-V / Vial Kit	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium SAL54 derived from FDA SAL 5694 / FDA SAL 5695	H <sub>2</sub> S+ Chloramphenicol (Cm10 <sup>6</sup> ) resistant
01277UV-S / Swab Kit 01277UV-V / Vial Kit	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium Sal46 derived from FDA SAL5693	H <sub>2</sub> S + Chloramphenicol (Cm10 <sup>6</sup> ) resistant
01226UV-S / Swab Kit 01226UV-V / Vial Kit	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Settenberg SAL59 derived from FDA SAL 5697	Lactose- H <sub>2</sub> S- Chloramphenicol (Cm10 <sup>6</sup> ) resistant
01278UV-S / Swab Kit 01278UV-V / Vial Kit	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Gammaria Sa67 derived from FDA SAL5695	H <sub>2</sub> S + Chloramphenicol (Cm10 <sup>6</sup> ) resistant
01230UV-S / Swab Kit 01230UV-V / Vial Kit	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Mbandaka Sa58 derived from FDA SAL5656	Sucrose + H <sub>2</sub> S + Chloramphenicol (Cm10 <sup>6</sup> ) resistant
01228UV-S / Swab Kit 01228UV-V / Vial Kit	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Minnesota Sa60 derived from FDA SAL5658	Lactose - H <sub>2</sub> S + Chloramphenicol (Cm10 <sup>6</sup> ) resistant
01224UV-S / Swab Kit 01224UV-V / Vial Kit	<i>Shigella flexneri</i> SF64 derived from FDA SH6552 / FDA SH6553	Kanamycin (Km25 <sup>6</sup> ) resistant Chloramphenicol (Cm10 <sup>6</sup> ) resistant
01276UV-S / Swab Kit 01276UV-V / Vial Kit	<i>Shigella sonnei</i> S561 derived from FDA SH6551	Chloramphenicol (Cm10 <sup>6</sup> ) resistant
01249UV-S / Swab Kit 01249UV-V / Vial Kit	<i>Listeria monocytogenes</i> (1/2a) derived from FDA LS808	Serotype 1/2a Erythromycin resistant
01248UV-S / Swab Kit 01248UV-V / Vial Kit	<i>Listeria monocytogenes</i> (1/2b) derived from FDA LS810	Serotype 1/2b Erythromycin resistant Rifampicin resistant
01250UV-S / Swab Kit 01250UV-V / Vial Kit	<i>Listeria monocytogenes</i> (4b) derived from FDA LS806	Serotype 4b Erythromycin resistant Streptomycin resistant
01271UV-S / Swab Kit 01271UV-V / Vial Kit	<i>Listeria innocua</i> (5a) modified from NCTC 11258	Serotype 5a Erythromycin resistant

- ✓ Otimizado para fluorescência altamente visível, fornece melhor estabilidade porque o marcador GFP é inserido no cromossomo ao invés do plasmídeo, de forma que a fluorescência seja estável.
- ✓ O Técnico pode estabelecer e esclarecer de forma rápida e confiável qualquer confusão quanto à origem do isolado do alimento, se o resultado de teste positivo é proveniente de um possível problema de contaminação cruzada de cepa de controle ou encontrado verdadeiramente no teste realizado.
- ✓ Garantia para o laboratório e o cliente de que os resultados positivos são provenientes da própria amostra de alimentos e não dos procedimentos realizados no laboratório.

Para Indústrias que exportam e devem atender o USDA: Manual do Laboratório de Microbiologia.

- Detecção, isolamento e identificação das Sete Principais *Escherichia coli* Produtoras de Toxina Shiga (STEC's) de Produtos de Carne e Carcaças e Esponjas Ambientais
  - ✓ 5C.3.1 Controles de método
  - ✓ “Uma cepa de referência de *E. coli* O157: H7 marcada que fica visivelmente fluorescente sob luz ultravioleta (UV) é usada como um controle positivo junto com um controle de meio de cultura não inoculado que serve como um controle negativo para o processo de enriquecimento.”
- Isolamento e identificação de *Salmonella* em carnes, aves, ovo pasteurizado e produtos siluriformes (peixes) e carcaças e esponjas ambientais
  - ✓ Capítulo 4.3.1 Controles de método
  - ✓ “Para facilitar a identificação de isolados de controle, o laboratório pode usar ... culturas marcadas, como aquelas que apresentam fluorescência visível sob luz ultravioleta (UV) para diferenciar cepas de CQ de contaminantes verdadeiros.”

## Formato Swab

- 6 swabs individuais
  - Innocu-Swab formato
- Selados em uma bolsa em uma caixa branca de plástico
- Estocagem a 2-8°C
- Disponível em 22 cepas



Cresce satisfatoriamente em placa de ágar não seletivo.

## Formato Vial

- 6 vials contendo um pellet por vial de dissolução instantânea
- Vials contidos em uma caixa branca de plástico
- Estocagem a 2-8°C
- Disponível em 22 cepas



# Como utilizar?

**1**



Allow the unopened UV-BioTAG swab pouch to equilibrate to room temperature. Tear open pouch at notch and remove the UV-BioTAG swab unit.

**2**



Break red snap valve at the top of the UV-BioTAG swab to release the hydrating fluid.

**3**



Squeeze the bulb at the top of the UV-BioTAG swab to rehydrate the pellet.

**4**



Using a pinching action on the bottom portion of the unit, crush the pellet in the fluid until the pellet suspension is homogenous.

**5**



Inoculate a primary culture plate(s) by gently rolling the swab over one-third of the plate.

**6**



Continue according to laboratory protocol.

**1**



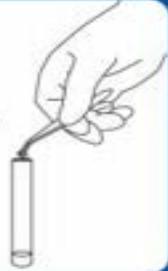
Remove the plastic container containing the vials of pellets from refrigerated storage. Remove the vials to be used; immediately place the plastic container containing the remaining vials back into refrigerated storage to maintain product stability.

**2**



Aseptically remove 1 pellet with sterile forceps from the vial. Do not remove desiccant.

**3**



Place the pellet in 0.5 ml of sterile fluid (water, saline, Tryptic Soy Broth, or Brain Heart Infusion Broth).

**4**



Crush the pellet with a sterile swab until the suspension is homogenous.

**5**



Inoculate a primary culture plate(s) by gently rolling the swab over one-third of the plate.

**6**



Continue according to laboratory protocol.

# Como visualizar?

➤ Fluorescerá quando o comprimento de onda de luz UV correto for usado:

- Cepas de Listeria: luz azul 475 - 495 nm e lentes de barreira de luz azul
- Todas as outras cepas: luz UV de comprimento de onda longa 315-400nm



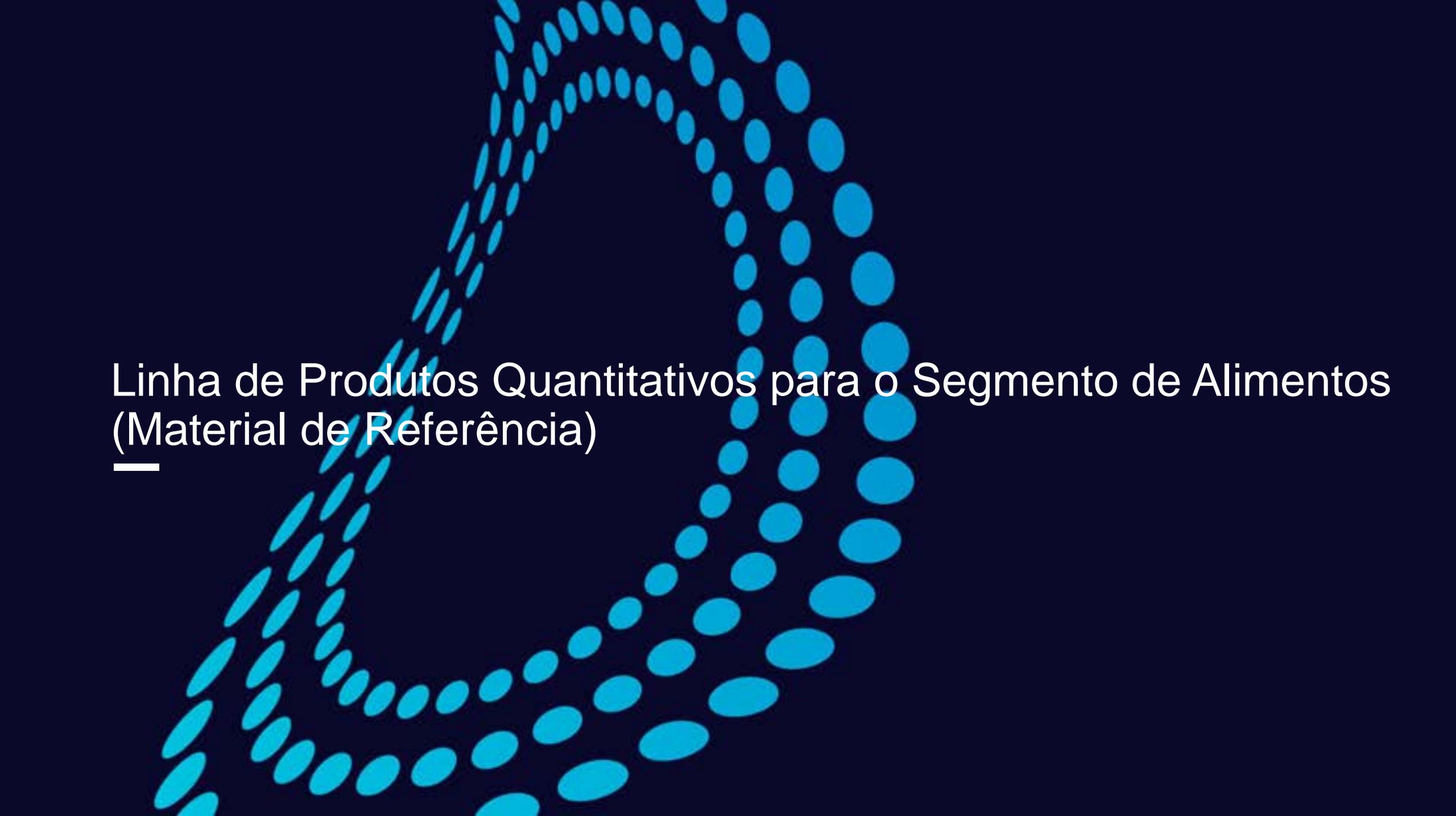
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Listeria monocytogenes</i> (1/2a) Catalog Number: 01249 Lot Number: 1249-03** Reference Number: FDA LS808 Purity: Pure Passage from Reference: 3	<b>Expiration Date:</b> 2020/7/31 <b>Release Information:</b> Quality Control Technologist: Mary L. Bowman Release Date: 2018/8/30
---	---

Performance	
<b>Macroscopic Features:</b> Small, circular, pale white, translucent.	<b>Medium:</b> SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Gram positive rods.	<b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Purple Broth w/Rhamnose: positive (1) Purple Broth w/Rhamnose: negative <b>Longwave UV fluorescence: fluorescent to five passages from pellet best visualized using blue light excitation 475 - 495 nm light and blue light barrier lenses.</b>



Longwave UV fluorescence: fluorescent to five passages from pellet best visualized using blue light excitation 475 - 495 nm light and blue light barrier lenses.



Linha de Produtos Quantitativos para o Segmento de Alimentos  
(Material de Referência)

---

- ✓ Disponível em concentrações que variam de 10E2 a 10E8 UFC por pellet
- ✓ Vial contém 10 pellets liofilizados de uma única cepa
- ✓ Certificado de Análise
- ✓ Fácil de manipular e oferecer uma ampla variedade de concentrações.
- ✓ Formato pronto para uso
- ✓ Armazenamento refrigerado 2 – 8°C
- ✓ Certificado de Análise
- ✓ Suporte Técnico especializado disponível para orientação

## Epower



## ESPECIFICAÇÕES E DESEMPENHO

Os micro-organismos Epower são embalados em kits. Cada kit é composto por:

- 1 frasco contendo 10 pilulas liofilizadas de um estirpe individual de micro-organismo
- Instruções detalhadas

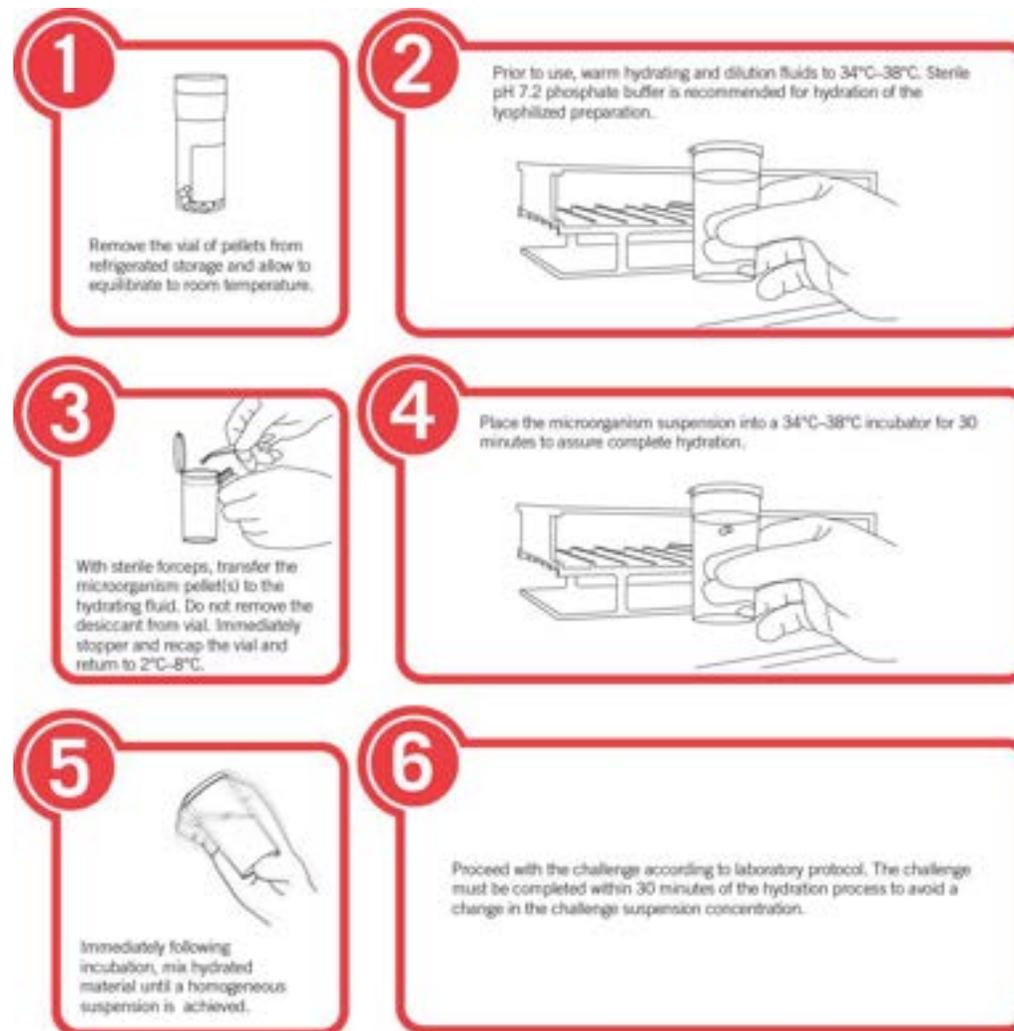
Os micro-organismos Epower estão disponíveis em uma variedade de concentrações de inoculação. Essas concentrações são identificadas pelo código no final do número do catálogo.

Por exemplo:

O número de catálogo 0392E3 identifica uma concentração de inoculação de  $10^3$  CFU por pilula. Isso significa que cada pilula E3 vai conter 1.000 – 9.999 CFU.

O número de catálogo 0392E6 identifica uma concentração de inoculação de  $10^6$  CFU por pilula. Isto significa que cada pilula E6 vai conter 1.000.000 – 9.999.999 CFU.

Concentração da pilula	Exemplos de concentração (CFU/ml) no volume de fluido hidratante especificado		
	1 ml	10 ml	100 ml
E2	100 – 999	10 – 99	1 – 9
E3	1000 – 9999	100 – 999	10 – 99
E4	10.000 – 99.999	1000 – 9999	100 – 999
E6	1.000.000 – 9.999.999	100.000 – 999.999	10.000 – 99.999
E7	10.000.000 – 99.999.999	1.000.000 – 9.999.999	100.000 – 999.999
E8	100.000.000 – 999.999.999	10.000.000 – 99.999.999	1.000.000 – 9.999.999





Let's Get Growing



Let's Get Growing

## Microbiologics Dilutions Guide

This document outlines how to perform dilutions when using Microbiologics products. **Dilution is the process of making a solution weaker or less concentrated.** In microbiology, serial dilutions (log dilutions) are used to decrease a bacterial concentration to a required concentration for a specific test method, or to a concentration which is easier to count when plated to an agar plate. This document was created to provide a better understanding of dilutions and should be used as a guideline, not a replacement for laboratory procedures.

### Log Dilutions

A log dilution is a tenfold dilution, meaning the concentration is decreased by a multiple of ten. To complete a tenfold dilution, the ratio must be 1:10. The 1 represents the amount of sample added. The 10 represents the total size of the final sample. For example, a sample size of 1 ml is added to 9 ml of diluent to equal a total of 10 ml.

**Example:** 1:10 dilution - if the concentration is 1,000 CFU, a one log dilution will drop the concentration to 100 CFU.



### Decimal Numbers vs Scientific Notation

Decimal numbers can be converted to scientific notations by moving the decimal place the same number of places as the exponential number.

$$100.0 = 1.0 \times 10^2 \quad 1. \overbrace{00}^2 = 100$$

$$350.0 = 3.5 \times 10^2 \quad 3. \overbrace{50}^2 = 350$$

Decimal Number	1	10	100	1,000	10,000	100,000	1,000,000
Scientific Notation	$10^0$	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$

### Multiple Dilutions

Multiple dilutions are required to decrease the sample concentration by multiple logs. If the concentration is 35,000 CFU/ml ( $10^4$ ), and 35 CFU/ml is the target concentration, the following serial dilutions can be performed.



### Larger Dilutions

Decreasing the concentration using fewer dilutions is possible with the use of large volume dilutions. This can be done by performing a 1:100 dilution instead of 1:10. An example of this can be observed in the Epower™ instructions for membrane filtration using Microbiologics E3 Epower™ product.

The E3 Epower™ product provides  $10^3$  CFU per pellet which equates to 1 pellet in 1 ml equaling  $10^3$  CFU/ml. Placing a  $10^3$  Epower™ pellet in 10 ml will drop the concentration to  $10^2$  - this is a one log dilution.

A 1:100 dilution can be created by placing 1 pellet in 99 ml as instructed in the membrane filtration instructions. This will drop the concentration two logs from  $10^3$  to  $10^1$  CFU/ml.



### EZ-CFU™ Dilution Example

When EZ-CFU™ is used according to directions, the following dilutions are conducted to reach a desired concentration of 10-100 CFU/0.1 ml.

- Two pellets are placed in 2 ml of hydrating fluid = 1,000 - 10,000 CFU/ml.
- 1:10 dilution is performed by placing 1 ml of the re-hydrated pellet solution into 9 ml of buffer = 100 - 1,000 CFU/ml.
- 0.1 ml of the organism suspension plated to an agar = 10 - 100 CFU per 0.1 ml.



## EZ-SPORE

### Detalhes

- 10.000 – 99.999(10<sup>4</sup>) UFC por pellet
- **Apenas suspensão de esporos**
- Estocagem 2-8°C
- Validade total: 24 meses

### Embalagem

- Caixa plástica vermelha
- 1 vial com 10 pellets

### Usos Pretendidos:

#### Testes em Alimentos Enlatados

- Validação / verificação de processos de selagem
- Validação / verificação das condições de processamento
- Métodos de limpeza

#### Detecção de esporos em alimentos não enlatados

#### Estudos de qualificação de desinfetante / limpador esporicida

**\*\*\*Não deve ser usado para validação de esterilização a vapor ou como indicador biológico\*\*\***

Pellet Concentration	Examples of Concentration (CFU/ml) in Specified Hydrating Fluid Volume		
	1 ml	10 ml	100 ml
10,000 – 99,000	10,000 – 99,999	1,000 – 9,999	100 - 999

- 1



Remove the vial of pellets from refrigerated storage. Allow the unopened vial to equilibrate to room temperature (about 30 minutes).
- 2



Prior to use, warm hydrating and dilution fluids to 34°C-38°C. Sterile pH 7.2 phosphate buffer is recommended for hydration of the lyophilized preparation.
- 3



With a sterile forceps, transfer the **EZ-SPORE™ microorganism** pellet to the hydrating fluid. Do not remove the desiccant from vial. Immediately stopper and recap vial and return to 2°C-8°C.
- 4



Place the microorganism suspension into a 34°C-38°C incubator for 30 minutes to ensure complete hydration.
- 5



Immediately following incubation, mix hydrated material until a homogeneous suspension is achieved.
- 6

Proceed with the challenge according to laboratory protocol.
- 7

The challenge must be completed within 30 minutes of the hydration process to avoid a change in the challenge suspension concentration.



Produtos Certificados sob a ISO 17034  
(Material de Referência Certificado)

---

**Qualitativa**

**1ª Passagem**

**Armazenamento 2 – 8°C**

**Rastreável**

**Suporte Técnico**

**Produto com Garantia**

**Certificado de Análise**



**\*As subculturas não são CRM**

**Apoio A2LA**

**Lab-Elite CRM (ISO 17034)**

**Quantitativa**

**1ª Passagem**

**Disponível em concentrações que variam desde 10E2 – 10E8 UFC por pellet**

**Armazenamento 2 – 8°C**

**Rastreável**

**Suporte Técnico**

**Produto com Garantia**

**Certificado de Análise**



**\*Epower CRM:**

**Comumente utilizada para Validação e Verificação de Equipamentos e Métodos de Análise**

**Epower CRM (ISO 17034)**



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

**Specifications**

**Microorganism Name:** Clostridium perfringens  
**Catalog Number:** 0318(CRM)(6)  
**Lot Number:** 318-236\*\*  
**Reference Number:** ATCC® 13124™\*  
**Passage from Reference:** 1

**Expiration Date:** 2022/3/31

**Release Information:**  
**Quality Control Technologist:** Kavitha Gobalan  
**Release Date:** 2020/5/14



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

**Specifications**

**Microorganism Name:** Escherichia coli  
**Catalog Number:** 0495(CRM)  
**Lot Number:** 495-123\*\*  
**Reference Number:** ATCC® 35218™\*  
**Passage from Reference:** 1

**Expiration Date:** 2022/3/31

**Certified Value:** 6.0E+03 CFU per pellet  
**(2) Expanded Uncertainty:**  
95% Confidence Interval: 2.8E+03 to 1.3E+04 CFU  
**(3) Standard Deviation:** 4.7E+02  
**Release Information:**  
**Quality Control Technologist:** Christine Condon  
**Release Date:** 2020/4/30





- Ao incorporar nossas cepas de microrganismos de controle de qualidade altamente credenciadas e totalmente rastreáveis em seu programa de teste de alimentos de rotina, Microbiologics pode ajudá-lo a garantir a precisão do teste, reduzir o risco e evitar recalls de produtos.
- Na Microbiologics, temos um compromisso de quatro pontos com um mundo mais seguro e saudável:
  - O fornecedor mais confiável do mundo
  - Foco no cliente no design e entrega do produto
  - Especialistas atenciosos e prontos
  - Experiência e excelência de classe mundial

**ALGUMAS PESSOAS  
ACHAM QUE O  
CONTROLE DA  
QUALIDADE AUMENTA  
O CUSTO DO PRODUTO.  
ONDE ESSA  
IMPRESSÃO  
EQUIVOCADA  
PREVALECER, O  
CONTROLE DA  
QUALIDADE JAMAIS SE  
TORNARÁ UMA  
POLÍTICA GERENCIAL.**

*quemdisse.com.br*

**Ishihara**





Obrigada!!!

Letícia Dias  
leticia.dias@plastlabor.com



# MASTER TITLE STYLE

*plastlabor*

10

## Referências:

- Website Microbiologics: <https://www.microbiologics.com/food-safety-industry>
- Documentação Técnica Microbiologics

# MASTER TITLE STYLE

*plastlabor*

10

Celular: (11) 94792 1644

Office SP: (11) 3862-9008

Matriz RJ (21) 2501.0888

[www.plastlabor.com.br](http://www.plastlabor.com.br)

Rua Arraias, nº88, Jacarepaguá

Rio de Janeiro - RJ