|  |  |
| --- | --- |
| TÍTULO: Preparo e Teste Simplificado para Detecção de Coliformes | VERSÃO: 00 |
| **Elaborador:** Enfª. Rafaela Cristina de Souza | Dt elaboração: 24/01/2024 |
| **Aprovação da Gerência:** Enfº.Glauciléia de Souza Arbach | Dt aprov. Gerência: 27/01/2024 |
| **Revisor:** Enfº. André Luiz Baptista Reis | Dt revisão: 26/01/2024 |
|  | |
| 1. DEFINIÇÃO | |
| E o ato de realizar a identificação de Coliformes Termotolerantes e Totais através do meio de cultura Caldo Verde Bile Brilhante (BGBL) que fermentam a lactose em 24/48 horas. | |
| 2. OBJETIVO | |
| Identificar a presença de coliformes nas amostras de frascos de leite humano ordenhado pasteurizado. | |
| 3. INDICAÇÃO E CONTRAINDICAÇÃO | |
| **Indicação:** Todos os frascos de leite pasteurizado.  **Contraindicação:** Não se aplica. | |
| 4. EXECUTANTE | |
| Enfermeiros, técnicos de enfermagem e Biólogo. | |
| **5. ORIENTAÇÃO PRÉ-PROCEDIMENTO** | |
| * Verificar a disponibilidade dos materiais que são utilizados no processo; * Verificar a quantidade e validade do Caldo Verde Bile Brilhante (BGBL); | |
| **6. DESCRIÇÃO DE MATERIAL** | |
| * EPIs – Equipamento de Proteção Individual (gorro, máscara, luvas de procedimento e óculos de proteção); * Luva estéril; | |
| * Capote estéril; * Uma Seringa de 10 ou 20ml * Pipetas; * Pipetador; * Tubo de vidro com tampa rosqueável com capacidade mínima de 15 mL; * Tubos de Durham; * Autoclave que permita operar por 121°C por 15 minutos; * Estufa bacteriológica para cultura, regulada a 36°C, com exatidão de ± 1ºC; * Balança semi-analítica com sensibilidade de 0,1g calibrada; * Bico de Bunsen; * Frasco para preparo de meio de cultura; * Bastão de vidro; * Frasco coletor de urina; * Campo cirúrgico; * Frasco de vidro com tampa de plástico; * Fita adesiva para autoclave; * Estante para suporte, revestida em PVC; * Estante para suporte de metal; * Pincel de marcador permanente * Recipiente de plástico transparente; * Gelo reciclável; * Transofix®; * Materiais e reagentes:   a. Caldo Verde Bile Brilhante simples (4% p/v) e concentrado (5% p/v);   * b. Água destilada. | |
| **7. DESCRIÇÃO DETALHADA DAS ATIVIDADES** | |
| * **1º momento: realizar o preparo do meio de cultura e reagente:**  1. Separar o material a ser utilizado no processo; 2. Lavar as mãos; 3. Paramentar com os EPIs; 4. Higienizar o frasco de água destilada e balança semi-analítica com gase embebida em álcool; 5. Pesar frasco coletor utilizando balança semi-analítica; 6. Tarar a balança; 7. Pesar 40g do meio de cultura Caldo Verde Bile em frasco (coletor de urina) utilizando balança semi-analítica; 8. Utilizar o transfixador no frasco de água destilada medindo 500ml no frasco para o preparo do meio de cultura; 9. Adicionar gradativamente água destilada, para a dissolução do meio de cultura, misturando com auxílio de bastão de vidro; 10. Homogeneizar todo o meio de cultura na água destilada; 11. Dispor a mistura em frasco de vidro apropriado; 12. Fechar o frasco deixando sua tampa a ¼ de volta para a sua esterilização; 13. Empacotar o frasco em um campo cirúrgico; 14. Passar a fita adesiva para autoclave em torno do campo; 15. Identificar: setor, data do preparo, validade e nome do funcionário responsável; 16. Esterilizar a 121°C durante 30 minutos;  * **2º momento: Acomodar o BGBL no tubo de ensaio:**   1. Pegar o material na esterilização;  1. Verificar a fita de autoclave garantindo que o produto foi esterilizado;    1. Lavar as mãos;    2. Abrir o campo expondo o frasco de vidro com o BGBL;    3. Abrir o campo expondo a estante de metal com os tubos de vidro;    4. Abrir o grau cirúrgico com as tampas, colocando-as sem contaminar no campo aberto da estante de metal; 2. Abrir o grau cirúrgico com o capote e compressa; 3. Paramentar-se utilizando os EPIs; 4. Realizar a escovação cirúrgica das mãos; 5. Colocar o capote e luva estéril; 6. Distribuir 9 ml do meio de cultura nos tubos de vidro, com seringa; 7. Tampar os tubos contendo as amostras com o meio de cultura; 8. Fechar com o próprio campo em que se encontra a estante caso não utilize no momento; 9. Identificar com o nome da solução e a data da realização do produto; 10. Armazenar sob refrigeração a 5ºC, podendo permanecer por até 15 dias.  * **3º momento: Preparo das amostras para análise microbiológica:**  1. Retirar os tubos com o meio de cultura do refrigerador para que os mesmos possam entrar em equilíbrio com a temperatura ambiente; 2. Abrir o campo cirúrgico expondo a estante de metal com os tubos de ensaio com a solução de BGBL; 3. Verificar se os tubos de Durhan estão completamente imersos no meio de cultura e livres de bolhas de ar e depósitos de cristais em seu interior; 4. Paramentar-se com os EPIs; 5. Identificar os tubos de ensaio com BGBL com pincel marcador permanente com a numeração da planilha de acordo com os frascos de leite pasteurizado; 6. Abrir o tubo de ensaio; 7. Abrir o frasco de leite humano pasteurizado em campo de chama; 8. Coletar em campo de chama quatro alíquotas de 1 mL da amostra a ser analisada em pontos diferentes do frasco de leite humano pasteurizado; 9. Dispor todas as alíquotas de uma mesma amostra em um único tubo de cultura contendo BGBL 4%; 10. Tampar o frasco de leite humano pasteurizado em campo de chama; 11. Tampar os tubos contendo o leite com o meio de cultura; 12. Encaminhar as amostras ao laboratório para análise microbiológica. | |
| **8. PONTOS CRÍTICOS/RISCOS** | |
| **Pontos Críticos**:   * Calibragem da balança e estufa; * Identificação dos tubos de acordo com os frascos; | |
| **Risco:**   * Quebra dos frascos e/ou pipetas; * Acidente com material biológico; | |
| **9. CUIDADOS PÓS-PROCEDIMENTO** | |
| * Preencher a planilha própria com a identificação dos fracos pasteurizados; * Encaminhar as amostras até o laboratório; * Incubá-los a 36°C durante 24 a 48 horas, em estufa. | |
| **10. RESULTADOS ESPERADOS** | |
| Garantir que os frascos de leite humano estejam livre de Coliforme Totais e termotolerantes. | |
| **11. REGISTROS** | |
| Identificar na planilha própria todos os tubos de ensaio. (enumerando cada mãe / amostra); | |
| 12. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA | |
| Norma Técnica BLH-IFF/NT 11.21: Higiene e Conduta: Funcionários e BLH-IFF/NT.  Norma Técnica BLH-IFF/NT 40.2: Controle de Qualidade Microbiológico - Teste Simplificado para Detecção de Coliformes Totais. | |
| **13. ANEXO** | |
|  | |

|  |  |
| --- | --- |
| **Elaborador:** Enfº. Rafaela Cristina de Souza |  |
| **Revisor:** Enfº. André Luiz Baptista Reis |  |
| **Aprovação:** Glauciléia de Souza Arbach |  |