



CÓPIA NÃO CONTROLADA



PE-2P&D-01598 Versão A

Padrão ATIVO

**TÉCNICA MICROBIOLÓGICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS
ANAERÓBIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS (BANHT)**

Aprovado por Leonardo Suhett de Souza/BRA/Petrobras (CENPES/PDIDMS/PPL/LABP) em 22 de out de 2018 | Gerido por CENPES/PDIDMS/PPL/LABP

CADASTROTipo

PE - Padrão de Execução

Nível

Nível 2 - Área / Gerência Executiva

Sigla

P&D

Abrangência desse Padrão

CENPES - Pesquisa e Desenvolvimento

Aprovador

CENPES/PDIDMS/PPL/LABP

ANP

Não

Outros FiltrosInstalaçãoPalavras-chaveEscopo da Certificação/Sistema de GestãoRequisitoMacroprocesso

Gerir Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação

Processo

Realizar ensaios de biotecnologia

Responsável Padronização

RH/DO/CLTG

VALIDAÇÃO**Padrão entrou em validação em 15/10/2018. Prazo para validação: 45 dias**

(até 29/11/2018)

Nome	Status	Data da Validação
Gerência Aprovadora	Validado	15/10/2018 10:44:15

1. OBJETIVO

Este padrão tem por objetivo aplicar técnica microbiológica para quantificação de bactérias anaeróbias heterotróficas totais (BANHT).

2. ABRANGÊNCIA

Este padrão se aplica à Biotecnologia.

3. DESCRIÇÃO

3.1. Materiais e reagentes

3.1.1. Materiais

- Seringas com volumes 5,0 ou 10 mL
- Frascos de penicilina contendo meio de cultura
- Fluxo laminar

3.2. Técnica quantitativa

3.2.1. Número mais provável é a técnica estimativa da densidade de bactérias em uma amostra calculada a partir da combinação de resultados positivos e negativos obtida mediante a técnica de tubos múltiplos (CETESB).

3.2.2. Os frascos contendo meio de cultura (meio de cultura para BANHT) e solução de diluição (solução salina), são inoculados em concentrações seriadas, entre 10^0 e 10^{-7} , utilizando-se seringas estéreis (uma para cada diluição).

O meio de cultura BANHT e a solução de diluição salina, caso seja necessário, sofrerão ajuste de salinidade.

3.2.3. Inocular 1 mL da amostra homogeneizada, manualmente, nos frascos 10^0 de meio de cultura e no frasco 10^{-1} de solução de diluição com a mesma seringa. Homogeneizá-los.

3.2.4. Retirar 4 mL do frasco 10^{-1} de solução de diluição (solução salina), transferindo 1mL para o frasco 10^{-2} de solução de diluição (solução salina) e 1mL para cada um dos três frascos 10^{-1} de meio de cultura, respectivamente, e assim, prosseguir até a diluição final. Os inóculos de cada diluição são feitos em triplicata, utilizando-se uma seringa para cada diluição.

3.2.5. A incubação é realizada em estufa a 30°C , por 28 dias. O acompanhamento do crescimento deverá ser diária e a confirmação do crescimento se dá através do aparecimento de turbidez, antecedida da mudança de cor do meio do róseo para incolor e, depois, para o amarelo e, finalmente, para o negro, caso haja simbiose com a BRS. Utilizar a tabela estatística (Harrigan, W. F. & Mc. Cance) referida às diluições com número máximo de frascos positivos para cálculo da concentração em NMP/mL ou a tabela para Cálculo do NMP desenvolvida pelo CENPES (em anexo) como citado na CT BTA 007/2008 (em anexo).

3.2.6. Para determinação do número mais provável, utilizando a tabela de Harrigan, deve-se utilizar três diluições sucessivas que possam cobrir uma faixa de resultados positivos e negativos. O NMP pode ser estimado pela multiplicação do NMP derivado da tabela pelo fator de diluição da primeira diluição da faixa escolhida. Por exemplo, se a série das três diluições for 1/10, 1/100 e 1/1000, e o número de frascos positivos detectados for 3, 2 e 1, respectivamente, o valor lido na tabela é 15 e o resultado será este valor multiplicado pelo fator de diluição da 1ª diluição da faixa escolhida, e neste caso o NMP será igual a 15×10^0 NMP BANHT/mL.

3.3. Considerações relativas ao meio ambiente

Todos os frascos utilizados são descontaminados por autoclavação e lavados antes de serem reutilizados.

Sobras de amostras que contenham óleo devem ser descartadas em vasilhame apropriado para descarte oleoso, sendo enviado para descarte no SMS.

Descartar as seringas de acordo com o PE-2P&D-01473.

Os resíduos e efluentes gerados devem ser gerenciados conforme os padrão PP-2P&D-00092 - Plano de gerenciamento de resíduos do CENPES.

3.4. Considerações relativas à saúde e segurança

Deve-se ter todo o cuidado com o manuseio das seringas, visto que, a mesma é amplamente utilizada nesse procedimento.

Obs.: Nunca reencapar as seringas.

Utilizar os EPIs listados abaixo:

- Guarda-pó
- Sapato de segurança
- Luvas cirúrgicas
- Óculos de segurança

Para utilização de Equipamentos de Proteção Individual, seguir as orientações apresentadas no padrão PP-2P&D-00086 - Gerenciamento de Equipamentos de Proteção Individual (EPI's).

Para uso de equipamentos de proteção respiratória, seguir as orientações apresentadas no padrão PP-2P&D-00082 - Programa de Proteção Respiratória.

4. REGISTROS

Registro	Quem Registra	Local de Arquivamento	Como Indexar	Tempo Mínimo de Retenção
Planilha de acompanhamento diário (em anexo)	Técnico de laboratório	Pasta relacionada à amostra	Por projeto e data	12 meses

5. DEFINIÇÕES

5.1. Definições

Autoridade	- Atribuição de aprovar ou decidir
Responsabilidade	- Atribuição de executar ou providenciar a execução
Inóculo	- Amostra introduzida
5.2. Siglas	
PE	- Padrão de Execução
BANHT	- Bactérias anaeróbias heterotróficas totais
NMP	- Número Mais Provável

As abreviaturas referentes às Unidades Organizacionais do CENPES encontram-se descritas no SINPEP/Administração do SINPEP/Órgãos.

6. REFERÊNCIAS

Relatório Técnico Supesq/Sebio 14/98.

Harrigan, W. F. & Mc. Cance. M.E. (1996) *Laboratory methods in food and dairy microbiology*

Comunicação Técnica BTA 007/2008

7. ANEXOS



CT BTA 007-2008.pdf NMP-2008-10-29_ok.xls Planilha NMP inteligente v2.1.xls

HISTÓRICO

Data	Ação
15/10/2018 10:33:46	Leonardo Suhett de Souza/BRA/Petrobras - Criou o documento
15/10/2018 10:41:21	Leonardo Suhett de Souza/BRA/Petrobras - Enviou para validação a qual deverá ocorrer até a data 29/11/2018
15/10/2018 10:44:47	Leonardo Suhett de Souza/BRA/Petrobras - Enviou para aprovação.

Data	Ação
22/10/2018 15:07:45	Leonardo Suhett de Souza/BRA/Petrobras - Aprovou o documento e ele se tornou "Ativo".

SUMÁRIO DE REVISÕES

Revisão	Data	Descrição
A	22/10/2018	[08/10/2020 10:04:51] - O usuário SINPEP, Paulo Ricardo Meirelles de Freitas, executou a ação "Substituir Gestor e/ou Aprovador" a qual alterou o Gestor do padrão de CENPES/PDISO/BIO para CENPES/PDIDMS/PPL/LABP. Revisão do Padrão:
0	27/03/2017	[27/03/2017 21:17:32] - Criado a partir da migração do Padrão PE-4CE-00107-E na base SINPEP CENPES.

ANÁLISE CRÍTICA

Data limite para análise
3 de dez de 2023
Análise crítica
Padrão não necessita de alteração/correção.
Responsável análise
LEONARDO SUHETT DE SOUZA/BRA/PETROBRAS
Data da análise crítica
03/03/2022

LISTA DE DISTRIBUIÇÃO

CENPES/PDIDMS/PPL/LABP

*****ÚLTIMA FOLHA DO PADRÃO*****