

Técnica de preparação do vascar para o meio Instituto Adolfo Lutz (IAL)

Luciana Juncioni de ARAUZ¹, Katia Cristina da Silva RODRIGUES²

¹Núcleo de Contaminantes Inorgânicos-Centro de Contaminantes-

Instituto Adolfo Lutz

²Núcleo de Ensaios Biológicos e de Segurança – Centro de Medicamentos, Cosméticos e Saneantes – Instituto Adolfo Lutz

A palmeira de carnaúba (*Copernicia cerifera*) é uma planta típica do nordeste brasileiro¹ e produz cera em suas folhas. A presença de cera nas folhas é consequência de sua adaptação às regiões secas, uma vez que essa camada cerífera dificulta a perda de água por transpiração excessiva, que ocorre em ambientes com longos períodos de estiagem e com baixa umidade relativa, e ainda protege a planta contra o ataque de fungos².

O processo de produção industrial produz diversos tipos de cera, que variam com as tonalidades de cor, do marrom escuro ao amarelo claro, sendo este último o mais puro³. Os diversos tipos de cera de carnaúba são comercializados na forma de escamas, pó ou ainda na forma sólida.

A cera de carnaúba é utilizada em uma das etapas de preparação do meio IAL (Instituto Adolfo Lutz), um meio de cultura que tem como finalidade o diagnóstico clínico.

O meio é elaborado em três etapas, como indica a Figura 1: (I) fase superior – meio de Rugai; (II) interfase – vascar; (III) fase inferior – meio lisina-motilidade.

A cera de carnaúba associada à vaselina é denominada “vascar” e é utilizada como uma camada

intermediária, de cerca de 2 mm, na separação das fases inferior e superior do meio de cultivo. A formulação e preparação desse meio são descritas por Otto Bier (1994)⁴ e por Pessoa e Silva (1972)⁵.

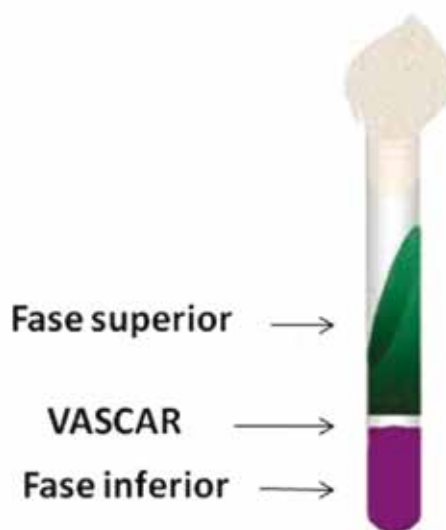


Figura 01. Ilustração do Meio IAL utilizado para o diagnóstico clínico, contendo três fases: (I) fase superior, contendo o meio de Rugai; (II) interfase, contendo vascar; (III) fase inferior, contendo o meio Lisina-Motilidade.

Este meio foi elaborado para a identificação presuntiva das principais espécies de enterobactérias e consiste em nove provas bioquímicas em apenas um tubo de ensaio: indol (tampão de algodão),

fermentação da sacarose e glicose e produção de gás, fenilalanina, ureia, H₂S e Lisina-Motilidade. Baseando-se nestas provas, é possível identificar as seguintes bactérias: *E. coli*, *Shigella* (indol positiva), *Shigella* (indol negativa), *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella spp.* (sacarose negativa), *Enterobacter cloacae*, *Providencia spp.* (ureia positiva) ou *Morganella morganii*, *Providencia spp.* (ureia negativa), *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella spp.*, *Salmonella typh*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* (necessita provas complementares), *Vibrio cholerae*, *Vibrio spp.* e bactérias não fermentadoras⁶.

O meio IAL tem a vantagem de ser prático para inoculação e de baixo custo. Sua desvantagem é a dificuldade de interpretação de tantas provas, exigindo muita experiência prévia com o meio⁶.

Para a preparação clássica desse meio, descrita na literatura⁴, uma quantidade adequada de vascar com consistência sólida é introduzida com o auxílio de uma espátula na extremidade inferior de tubos de ensaio de 12 mm x 120 mm. Porém, os diferentes fabricantes de ceras de carnaúba e vaselinas comercializadas no mercado podem causar variações na concentração definida pela literatura do vascar. Isto porque as diferentes consistências desenvolvidas nas preparações (cera e vaselina) geram dificuldades em sua introdução no tubo de ensaio. Se a preparação apresentar consistência macia demais, o vascar adere facilmente às laterais do tubo e não atinge a parte inferior do tubo. Por outro lado, se apresentar consistência dura demais, dificultará a introdução da alça de platina (ou descartável) para a inoculação da amostra no meio de cultivo. Assim, se houver a necessidade de correção da consistência de preparação (cera e vaselina), deverá ser adicionada uma quantidade maior de cera ou de vaselina até se atingir o ponto ideal.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar duas maneiras distintas na distribuição do vascar nos tubos de ensaio: o vascar sólido e o vascar líquido.

As ceras de carnaúba comerciais foram obtidas do Palácio da Cera tipo 3 (escamas), GrauLab LTDA tipo 4 (escamas) e Palácio da Cera tipo 1 (forma sólida). As vaselinas utilizadas foram de grau analítico dos fabricantes Synth e Dinâmica. Foram utilizados tubos de borosilicato 12 mm x 120 mm, fechados com tampões de algodão.

A composição padrão da cera de carnaúba para o meio IAL indicada na literatura é de 10 g de cera para cada 90 mL de vaselina líquida. Esta mistura foi aquecida em um béquer (fogo brando) até a completa homogeneização. Para manter a mistura na forma líquida no interior do béquer, foi utilizado um agitador magnético com chapa de aquecimento. Já a forma sólida foi obtida pelo resfriamento da mistura até a temperatura ambiente. Posteriormente, o vascar foi adicionado, a uma quantidade de cerca de 2 mm, nos tubos de ensaio (Otto Bier) com o auxílio de uma espátula (sólido) ou com uma pipeta de vidro (líquido).

O estudo demonstrou que ambas as formas de vascar, sólido e líquido, podem ser utilizadas na elaboração do meio de cultivo. A forma sólida de vascar consiste na preparação da mistura de cera de carnaúba e vaselina, resfriada até a temperatura ambiente, até atingir a consistência sólida. Então, o vascar é introduzido no interior do tubo de ensaio com o auxílio de uma espátula. Já a forma líquida consiste na utilização da mistura aquecida, que por sua vez, é introduzida no tubo de ensaio com o auxílio de uma pipeta com um volume aproximado de 2,5 mL de vascar.

A forma líquida proporcionou maior rapidez no processo de distribuição de vascar, uma vez que a introdução do líquido (quente) na parte inferior dos tubos fez com que o vascar não aderisse a suas paredes laterais. Já na distribuição do vascar na forma sólida, por vezes ocorreu a adesão do vascar às paredes do tubo, impedindo sua chegada à parte inferior deste. Neste caso, não é recomendável bater o fundo do tubo contra uma superfície para tentar

deslizar o vascar até sua extremidade inferior, uma vez que este procedimento pode quebrar o tubo e causar ferimentos no indivíduo.

Adicionalmente, quando a preparação apresentou consistência dura demais, a alça bacteriológica apresentou maior resistência para perfurar a camada intermediária de vascar do meio de cultura IAL. Em ambos os casos da forma sólida de vascar, a formulação deste componente foi alterada com a adição de vaselina ou cera de carnaúba até atingir o ponto ideal. Assim, esse processo foi mais lento, além de causar variações na concentração ideal definida pela literatura.

Esse estudo demonstrou que os diferentes fabricantes de vaselina e cera de carnaúba podem ser utilizados para a preparação do vascar com a concentração padronizada pela literatura. Os resultados ainda sugerem que a consistência líquida é a forma ideal para a introdução do vascar nos tubos de ensaio, devido à rapidez da técnica e conservação da fórmula original.

REFERÊNCIAS

1. Arruda GMT, Calbo MER. Efeitos da inundação no crescimento, trocas gasosas e porosidade radicular da carnaúba (*Copernicia prunifera* (Mill.) H. E. Moore). *Acta bot bras.* 2004;18(2):219-24.
2. Rodrigues VP. *Copernicia cerifera* Mart.: Aspectos Químicos e Farmacológicos de uma Palmeira Brasileira [dissertação de mestrado]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2004.
3. Rowland IR, Butterworth KR, Gaunt IF, Grasso P, Gangolli SD. Short-term toxicity study of carnauba wax in rats. *Food Chem Toxicol.* 1982 ago;20:467-71.
4. Bier O. *Microbiologia e Imunologia*. São Paulo: Melhoramentos; 1994.
5. Pessoa GVA, Silva EAM. Meios de Rugai e lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 1972;32:97-100.
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde [Internet]. Brasília, 2004. [acesso em 2013 nov 15]. Disponível em: [http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf].