



MANUAL

Analises Microbiológicas

CITOMETRIA DE FLUXO



TABELA DE PREÇOS

REFERÊNCIA	DESIGNAÇÃO	OBJETIVO DO ESTUDO	PREÇO UNITÁRIO (€) *	PREÇO UNITÁRIO (€) * > 10 AMOSTRAS
LAB00107	LeviaTest	Avaliar e quantificar presença de leveduras	24	22
LAB00108	BrettaTeste_Beads	Avaliar e quantificar <i>Brettanomyces</i>	42	39,5
LAB00109	TVO_R	Avaliar e quantificar leveduras e bactéria Avaliar o estado das suas membranas e DNA	30	27
LAB00110	PACK-A LeviaTest + BrettaTeste_Beads	Avaliar e quantificar presença de leveduras Avaliar e quantificar <i>Brettanomyces</i>	55	
LAB00111	PACK-B BrettaTeste_Beads + TVO_R	Avaliar e quantificar <i>Brettanomyces</i> Avaliar e quantificar leveduras e bactéria Avaliar o estado das suas membranas e DNA	60	
LAB00112	PACK-C LeviaTest + BrettaTeste_Beads+ TVO_R	Avaliar e quantificar presença de leveduras Avaliar e quantificar <i>Brettanomyces</i> Avaliar e quantificar leveduras e bactéria Avaliar o estado das suas membranas e DNA	70	

NOTA: Aos preços indicados acresce IVA à taxa legal em vigor

ANÁLISE DE SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA

IMUNOCITOMETRIA

- O único método que permite estudar a célula intacta;
- Identificação de células VBNC (viable but non-culturable: risco escondido) não detetadas por outros métodos;
- Quantificação absoluta e nível de atividade metabólica;
- Detecção precoce para evolução de riscos: *Brettanomyces*, leveduras e bactérias;
- Monitorização microbiológica com decisão em 24 horas.



**Garantia de
qualidade**



**Redução de riscos
de acidentes e alterações**



**Melhoria da saúde
e durabilidade das
barricas**

DESTAQUE

O único método

Técnica imunológica baseada em anticorpos, combinada com citometria de fluxo, que permite estudar a célula intacta.

Em apenas 1 análise

- Detecção específica (ex.: *Brettanomyces*)
- Quantificação absoluta das populações
- Avaliação da atividade metabólica e energética (nível de atividade celular)

BENEFÍCIOS

- Avaliação regular e real dos riscos microbiológicos
- Validação imediata e sistemática dos processos e tratamentos antissépticos na adega

MONITORIZAÇÃO ANALÍTICA

Quando?	Porquê?	Método?
Pé de cuba	• Otimização da qualidade do pé de cuba; • Otimização do volume necessário para a inoculação.	Kit LeviaTest
Fermentação alcoólica (FA)	• Otimização da necessidade nutritiva; • Redução do risco de fermentações lentas ou paradas; • Avaliação precoce de Brett e avaliação simultânea da atividade celular.	Kit LeviaTest Kit Brettatest
Fermentação maloláctica (FML)	• Avaliação da atividade das leveduras no final da FML; • Avaliação de Brett e da sua atividade celular; • Avaliação da atividade bacteriana na sua inoculação; • Assegurar o início da FML.	Kit LeviaTest Kit Brettatest Kit TVO_R
Estágio (e atestos)	• Avaliação da atividade de leveduras durante o estágio e atestos; • Avaliação do risco real de alteração dos vinhos ou contaminação de barricas ou foudres; • Avaliação de Brett e da sua atividade celular.	Kit LeviaTest Kit Brettatest
Lotar	• Avaliação da atividade de leveduras após o lotar; • Avaliação de Brett e da sua atividade celular.	
Pré-engarrafamento e engarrafamento	• Validação da eficácia de filtrações (esterilizantes ou não esterilizantes); • Esterilidade/desinfecção das linhas de engarrafamento.	Kit LeviaTest Kit TVO_R
Trasfegas	• Avaliação da atividade de leveduras após as trasfegas; • Avaliação de Brett e da sua atividade celular.	Kit LeviaTest
Sulfitagem / Outros tratamentos antissépticos	• Validação imediata da eficácia do SO₂ ou outro tratamento antisséptico; • Otimização (redução) do uso de químicos.	Kit Brettatest

PROCEDIMENTO DE RECOLHA DE AMOSTRAS

Opções de recolha (I, II, III):

I. Através da provadeira da cuba

- Limpar a torneira (etanol)
- Dispensar 2-3 L de vinho
- Recolher a amostra num frasco estéril
- Fechar de imediato o frasco após colheita
- Limpar novamente a torneira



II. Diretamente na cuba

- Mergulhar o frasco de amostra
- Fechar o frasco na cuba
- Homogeneizar a amostra agitando-a



III. Através do batoque da barrica

- O equipamento de amostragem deve estar limpo
- Mergulhar o equipamento de recolha na barrica
- Recolher a amostra no fundo da barrica, por baixo das borras (10 cm)
- Após a recolha, fechar de imediato o frasco da amostra
- O equipamento de amostragem deve ser devidamente higienizado a cada recolha e no final da utilização



AMOSTRAGEM EM BARRICA

1. De acordo com a quantidade do lote:

- Lote de **100 barricas**, retirar amostra de pelo menos **10 barricas**
- Lote de **50 barricas**, retirar amostra de pelo menos **6 barricas**
- Lote de **10 barricas**, retirar amostra de pelo menos **3 barricas**

(Retirar a amostra sempre das mesmas barricas.)

2. Em função da localização das barricas na adega:

- Optar pelas barricas mais **sujeitas a correntes de ar e alterações de temperatura.**

3. Em função da idade das barricas

- Efetuar recolha de amostras em todas as barricas **priorizando as barricas novas** (se o lote for composto por barricas novas e antigas).

4. Em vinhos utilizados para atesto:

- Analisar o vinho **antes do atesto**, para evitar contaminações.

5. Frequência de análises em função da temperatura na adega:

- Entre **8°C a 15°C**, analisar de **3 em 3 meses**.
- Superior a **15°C**, analisar **1 vez por mês**.



ATENÇÃO:

É importante esperar pelo menos 15 dias entre uma operação de estabilização (sulfitagem, filtração, tratamento térmico...) e a colheita de amostra para análise microbiológica.

PROCEDIMENTO DE ENVIO DE AMOSTRAS



- I. Recolha de amostra de acordo com o procedimento de recolha (volume necessário de amostra 50 ml, exemplo na imagem).
- II. Recolha e envio de **segunda-feira a quinta-feira em transporte rápido**, para evitar a deterioração da amostra durante o transporte.
- III. Envio da amostra devidamente identificada: nome cliente, contacto telefone/email do responsável, identificação da vasilha (código da amostra, tipo de vinho, ano de colheita, volume da vasilha e fase de vinificação), referência e designação do parâmetro pretendido.
- IV. Envio e confirmação do pedido de análise para o email **laboratorio@afreitasvilar.com** com envio da folha em anexo devidamente preenchida (LAB.R06.00).

Brettanomyces bruxellensis

- Produção de **fenóis voláteis** (carácter "Brett": animal, couro, especiarias) e **piridinas** (gosto de rato);
- Sedimentação rápida de *Brettanomyces bruxellensis* nas **cubas e barricas**;
- População mais elevada **nas borras e por baixo das borras**.

O acompanhamento deve incluir o estudo de viabilidade e quantificação de leveduras:

- 1º deve ser realizado o LeviaTest, para avaliar se existem populações de leveduras e qual o seu estado;
- 2º deve ser realizado o BrettTest_Beads, se o LeviaTest apresentar leveduras ativas;
- 3º Se pretender incluir o estudo e quantificação de bactérias deve realizar o TVO_R;
- 4º Após os testes realizados, deve agir de acordo com os resultados obtidos.

Análise Microbiológica
Citometria de Fluxo

Nome Cliente:

Requisitado por:

E-Mail:

Tel.:

Data: / /

Nº Interno	Identificação Amostra	Tipo de vinho (VB, VT, VR, etc)	Ano de colheita	Fase de vinificação (após FML,antes/depois filtração, estágio)	Tipo de depósito e volume	Tipo de análise