

Finalidade:

Laminocultivo destinado ao isolamento de *Neisseria* spp. em materiais clínicos.

Registro ANVISA:

10097010-137

Apresentação:

500999 - GONOLAB P/NEIS.GONORH.-CHOCO/TM-CX 10TB

LB 170104
Rev. 08 – 11/2019

1. INTRODUÇÃO

Dentre as doenças causadas pelas bactérias do gênero *Neisseria* spp., a blenorragia é uma das Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) mais difundidas no mundo inteiro, causada pela *Neisseria gonorrhoeae*, que se não tratada pode apresentar complicações em longo prazo que envolve salpingites, epididimites, prostatites, cegueira neonatal e outras. A meningite meningocócica, causada pela *Neisseria meningitidis* é uma doença extremamente contagiosa que pode ocasionar surtos e epidemias, podendo causar óbitos.

O isolamento de *Neisseria* spp. assume papel importante na rotina laboratorial, uma vez que a bacterioscopia pelo Gram sofre algumas limitações e possui uma especificidade baixa em se tratando desse gênero de bactérias.

2. COMPOSIÇÃO**1- Face 1 Laminocultivo: Meio Thayer Martin****a) Meio Base**

Formulação	Concentração/L
Peptona	15,0g
Amido de Milho	1,0g
Fosfato dibásico	4,0g
Fosfato Monobásico	1,0g
Cloreto de Sódio	5,0g
Ágar	10,0g
pH 7,2± 0,2 a 25°C	

b) Suplementos

Formulação do Suplemento XV	Concentração/L
Adenina	10,0 mg
Ácido p-Aminobenzoico	0,25 mg
Cocarboxilase	2,0 mg
L-Cisteína	259mg
L-Cistina	11,0 mg
Nicotinamida Adenina Dinuceotideo	3,5 mg
Citrato Férrico	0,3 mg
L- Glutamina	200 mg
Guanina	0,3 mg
Tiamina	0,06mg
Vitamina B ₁₂	0,2 mg
Dextrose	1,0g

Formulação do Suplemento VCNT

Solução contendo uma mistura dos antibióticos vancomicina, colistina, nistatina e trimetropim

2- Face 2 Laminocultivo: Ágar Chocolate

Formulação	Concentração/L
Hidrolisado pancreático de caseína	7,5

Aspecto físico do produto: meio opaco, com coloração marrom homogênea, livre de precipitados e perfeitamente aderidos à lâmina. Considerando que este produto é gelatinoso e sua composição pode apresentar até 80% de água, ao sofrer variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) todo meio de cultura pode gerar condensação, de pouca a muita, acumulando água na placa. Recomenda-se guardar as placas com os meios de cultura virados

para cima e, quando necessário, desprezar a água acumulada e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura antes de sua utilização.

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa ($\pm 37^\circ\text{C}$) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do meio, expor o produto a contaminações ou gerar um acúmulo de água excessivo.

A água acumulada por condensação, ocasionada por alguma variação de temperatura, não influencia no desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento ou diminuição de espessura.

Devido a presença de substratos sensíveis, recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

d - Tipos de amostra

Secreções do trato genital, coletadas em diferentes sítios como uretra, canal vaginal, canal cervical, etc.

Para diagnóstico da meningite, usar líquido como amostra.

Também podem ser utilizadas amostras oriundas de hemocultura, secreção ocular, líquido pleural, peritoneal, ascítico, diálise, pericárdico e sinovial.

e- Precauções e cuidados especiais

- O produto é destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;

- Uso restrito por profissionais;

- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;

- Não inalar ou ingerir;

- Não utilizar o produto com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;

- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;

- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;

- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos Detrilab.

- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222, DE 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;

- Alças bacteriológicas;

- Swab uretral estéril;

- Água destilada estéril.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- a- Deixar que o produto e a amostra adquiram a temperatura ambiente;
- b- No momento do uso, romper o lacre, remover cuidadosamente a tampa com a lâmina contendo os meios de cultura (cuidando para não tocar nas bordas);
- c- Usando alça de platina flambada e resfriada ou swab estéril, semear cuidadosamente o material nos dois meios;
- d- Colocar cerca de 0,2 mL de água destilada estéril no fundo do vial (quando existe água de condensação no fundo do vial não é necessário adicionar água), e com pinça estéril transferir 1 comprimido de CO₂ para o fundo e imediatamente colocar a tampa de volta ao vial fechando-a bem;
- e- Incubar o material em estufa bacteriológica a 35°C por 24-48h. Leitura (deve ser feita sob uma boa fonte de luz);
- f- Em caso de crescimento, checar a morfologia através da bacterioscopia por Gram;
- g- No meio ágar chocolate podem crescer outras espécies de bactérias, portanto observar com critério todas as colônias;
- h- No meio de Thayer Martin as colônias de *Neisseria gonorrhoeae* são pequenas, translúcidas e semelhantes a "gotas de orvalho", oxidase positivas.
- i- Após a incubação analisar o desenvolvimento de colônias e analisar as cores conforme descrito a seguir:

Microrganismos	Cores das colônias
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Dimensões pequenas (1 a 2 mm), de incolores a brancas acinzentadas e mucóides
<i>Neisseria meningitidis</i>	Dimensões de médias a grandes (2 a 8 mm), incolores a levemente cinzas, por vezes apresentam uma tonalidade azulada, mucóides
<i>Haemophilus influenzae</i>	Dimensões pequenas (1mm), úmidas, aspecto de pérola e odor característico
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Colônias baixas, de dimensões pequenas (1 a 3 mm), habitualmente esverdeada.
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Colônias redondas, convexas, opacas, dimensões pequenas (1 a 3 mm), colorações variando entre cinza clara a levemente esverdeado, quando tocadas deslizam sobre o meio de cultura permanecendo intactas.

- j- A interpretação das colônias deve sempre levar em consideração as características morfológicas e, quando necessário, as microscópicas.
- k- Pode ser necessário a incubação por mais 24h, para melhor desenvolvimento completo dos microrganismos, das cores das colônias e diferenciação das espécies.
- l- Caso haja crescimento de qualquer colônia que não corresponda as características descritas, ou para casos em que não ocorra a formação completa da coloração sugerida, proceder com a avaliação do Gram da colônia e testes identificação e confirmatórios.

7. RESULTADOS

Relatório

- Não havendo crescimento:

"Não houve desenvolvimento de *Neisseria* spp., na amostra analisada após 48h de incubação a 35°C";

- Havendo crescimento:

" Houve desenvolvimento de *Neisseria* spp., (indicar espécie caso tenha sido feita a identificação bioquímica) na amostra analisada ".

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 36/2015)

Os resultados falsamente positivos ou negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Para a pesquisa de *Neisseria* spp., é necessária a incubação com os discos de CO₂ fornecidos. Não abrir os frascos antes do período preconizado.
- Tempo longo entre a semeadura da amostra e análise. Ao utilizar colônias isoladas em um período superior a 24 horas, o metabolismo bacteriano pode ficar comprometido e a leitura de

alguns parâmetros podem consequentemente ficar defasados ou até mesmo não ocorrer. Em colônias recentes (inferior ao período de 18 horas) não se encontram com o metabolismo bem definido, e algumas provas podem não ocorrer.

- Incubação em temperatura inadequada.
- Utilização de agulha flambada não resfriada.
- Sobrecarga de inóculo ou falta de inóculo. Inóculos mais carregados fornecem resultados falsamente positivos e inóculos mais fracos fornecem resultados falsamente negativos.
- Interpretação equivocada de resultados.
- Técnica de assepsia inadequada.
- Tempo excessivo ou insuficiente de incubação. Tempo excessivo de incubação fornece resultados falsamente positivos e tempo insuficiente fornece resultados falsamente negativos.
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas.
- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico.
- Utilização de meios de cultura com aparência alterada.
- Não aguardar para que os materiais atinjam a temperatura ambiente no momento do uso.
- A não incubação dos tubos com a tampa frouxa pode ocasionar falsos resultados negativos.
- A não utilização de reativo fornecido juntamente com os tubos pode ocasionar falsos resultados negativos ou positivos.
- Erro na conservação do produto pode ocasionar desidratação do meio e alteração das propriedades dos componentes.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Cepas padrão: ATCC® (*American Type Culture Collection*) ou derivadas).

- *Controle de qualidade recomendado:*

Cepas	Resultado esperado
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC® 43069	Crescimento Bom (Agar Chocolate e Thayer Martin) (Incubação 33-37 C – 18-48h em tensão de CO ₂)
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 10211	Crescimento Bom (Agar Chocolate e Thayer Martin) (Incubação 33-37 C – 18-48h em tensão de CO ₂)
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC® 25933	Inibição Total a Parcial Inóculo: 30-300 UFC/ mL (Incubação 33-37 C – 18-48h)
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228	
<i>Candida albicans</i> ATCC® 10321	

- *Periodicidade*

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

- *Análise dos resultados*

As cepas inoculadas no material devem apresentar características de crescimento esperados. Caso se constate algum problema ou diferença, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
- que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS

1. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 5 :Tecnologias em Serviços de Saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013. 95p...: il.9 volumes ISBN.
2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6 : Detecção e identificação de bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013. 150p...: il.9 volumes ISBN
3. Difco Manual, 2 edition, 2009.

4. KONEMAN, Elmer; *et al.* Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
5. MAHON, Connie, Manuseis, George Jr. Diagnostic Microbiology. Saunders, USA, 1995.
6. MURRAY, P.R. *et al.* Manual of Clinical Microbiology. 7th ed, American Society for Microbiology 1999.
7. OPLUSTIL, C. P. *et al.* Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 3. ed. São Paulo, 2010.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone 041 36619000
www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Ana Lúcia Monteiro – GRF/PR-5972
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-410027
sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Europeia.
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando oxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso
	Controle		Controle negativo
	Controle positivo		Manter seco
	Manter afastado de luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho de IVD
	Não reutilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Segunda edição (28.07.2015)