

**Finalidade:**

Meio seletivo destinado ao cultivo de micobactérias.

**Registro ANVISA:**

10097010134

**Apresentação:**

510028 - LOWENSTEIN JENSEN-BK-5mL-TB16X92-CX10TB

LB 172125  
Rev. 11 – 09/2024

## 1. INTRODUÇÃO

A base do meio é constituída por ovos integrais, o que permite amplo crescimento das micobactérias e o crescimento é satisfatório para o teste de niacina (que é positivo para *Mycobacterium tuberculosis*). O isolamento de micobactérias na prática é um processo demorado, porém fornece resultados mais exatos que a simples baciloscopia.

## 2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/L
Citrato de magnésio	0,6g
Sulfato de magnésio	0,24g
Fosfato potássico monobásico	2,4g
Asparagina	3,6g
Glicerol	13g
Verde malaquita	0,3g
Ovos	667mL
Água deionizada	333mL

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

## 3. AMOSTRA

O material usado pode ser o escarro, lavado brônquico, urina, fezes e outras secreções. Como a pesquisa no escarro é a mais frequente, o presente procedimento de uso será orientado para este tipo de material.

### a- Preparo do paciente

A coleta do escarro deve ser executada de preferência pela manhã, em frasco estéril, de boca larga e tampa de rosca, devendo o paciente fazer alguns bochechos com água potável antes da coleta. Deve-se instruir o paciente a procurar expectorar o material dos pulmões, evitando contaminação com saliva e outras secreções o máximo possível.

### b- Armazenamento e estabilidade

As amostras devem ser encaminhadas ao laboratório em até 12 horas a temperatura ambiente (20 a 25°C). Para períodos prolongados, máximo 48 horas, manter as amostras refrigeradas de 2 a 8°C. Não congelar.

### c- Critérios de rejeição

- Rejeitar as amostras que apresentarem-se com visível contaminação por saliva, ou que não tenham sido coletadas em recipientes e condições adequadas.  
- Amostras coletadas e não armazenadas de maneira adequada não devem ser processadas.

- Observar a seguir, os critérios de rejeição na triagem pela coloração de Gram para assegurar qualidade da amostra:

- ACEITÁVEL:  $\leq 10$  células epiteliais/campo e  $\geq 25$  leucócitos/campo.

- INACEITÁVEL:  $\geq 10$  células epiteliais/campo e  $\leq 25$  leucócitos/campo.

OBS: Realizar leitura com aumento de 10X.

### d- Precauções e cuidados especiais

Todas as amostras devem ser manipuladas com extrema cautela, pois podem veicular diversas doenças infectocontagiosas (hepatite,

SIDA etc.). Devem também ser processadas em uma cabine de segurança biológica pelo alto risco de contaminação pela formação de aerossóis. Seu descarte deve ser feito preferencialmente após sua autoclavagem devendo-se evitar seu descarte diretamente no meio ambiente. Recomendamos o uso do Detrilab (códigos 570668 ou 570670).

## 4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

### a- Reagentes

O meio Lowenstein-Jensen compõe-se basicamente por asparagina, fosfato, sais de magnésio, ovos frescos homogeneizados, fécula de batata e verde malaquita.

### b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório deve permanecer em geladeira (2 a 12°C), condição em que se mantém estável até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza.

### c- Precauções e cuidados especiais

- O produto destina-se ao uso diagnóstico in vitro;  
- O verde malaquita pode eventualmente oxidar, conferindo ao meio uma tonalidade amarelada, que não interfere em seu desempenho;  
- No processo de fabricação pode ocorrer que alguns tubos apresentem pequenas manchas castanhas próximas à superfície inclinada, o que não interfere no desempenho do produto;  
- Não se deve usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado.  
- 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, bico de Bunsen;  
- Alças bacteriológicas em platina;  
- Ácido clorídrico N/1  
- NaOH a 4%

## 6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

a- Misturar em um tubo de centrifuga estéril partes iguais de escarro e solução de NaOH a 4% e agitar durante 5 minutos, centrifugando a seguir por 10 minutos a 3000 rpm;

b- Desprezar o sobrenadante e neutralizar o sedimento adicionando uma gota de solução de vermelho de fenol e em seguida gota-a-gota HCl 1N até adquirir uma coloração rósea;

c- Trabalhando próximo à chama e com alça bacteriológica em platina flambada e resfriada, inocular uma alíquota do sobrenadante da etapa anterior por estriamento na superfície inclinada;

d- Incubar em estufa a 35-37 °C por até 60 dias;

e- Examinar as culturas duas vezes nas duas primeiras semanas e uma vez nas semanas seguintes até completar 8 semanas. Anotar o número e a pigmentação das colônias. Observar a presença de contaminantes (fungos e outras bactérias) e presença de mais de um tipo de colônias de micobactérias.

f- Se houver crescimento, fazer um esfregaço em lâmina de uma colônia, utilizando uma gota de água estéril. Deixar secar, fixar e corar como descrito no item baciloscopia.

g- Observar e anotar: presença de BAAR, a formação de corda e a presença de contaminantes

h- Havendo crescimento confirmado, proceder identificação do microrganismo isolado segundo os protocolos adotados pelo laboratório.

## 7. RESULTADOS

**Cor original do meio:** verde claro.

**Cultura negativa:** ausência de crescimento de colônias.

**Cultura positiva para BAAR:** Crescimento de colônias amarelas, quando for confirmado BAAR no esfregaço em lâmina.

**Cultura contaminada:** crescimento de outras bactérias que não micobactérias.

**Formação de corda:** As espécies do complexo *M. tuberculosis* apresentam a formação de corda, ou grumos aglomerados lineares. Geralmente os bacilos apresentam-se em paliçada adquirindo um aspecto de corda. Outras vezes apresentam-se como grumos compactos assemelhando-se a um borrão de corantes.

## 8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- *Riscos Residuais Identificados conforme 830/2023:*

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

- 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.
- 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 solução descontaminante fornecido pela Laborclin pode ocasionar falsos resultados negativos ou positivos.
- A não utilização de swab fornecido pela Laborclin 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 ou derivadas) ATCC – *American Type Culture Collection*

- *Controle de qualidade recomendado:*

Cepas	Resultado esperado	
Produtividade quantitativa <i>M. tuberculosis</i> ATCC 25177®	35°C – até 22 dias (inoculado a partir do tubo 10-3)	Crescimento confluyente de colônias (incontáveis)
Produtividade quantitativa <i>M. tuberculosis</i> ATCC 25177®	35°C – até 22 dias (inoculado a partir do tubo 10-5)	Crescimento de 50 a 150 colônias (contáveis)
Produtividade quantitativa <i>M. tuberculosis</i> ATCC 25177®	35°C – até 22 dias (inoculado a partir do tubo 10-6)	Crescimento de 1 ou 2 colônias

Meio não inoculado	Meio sólido inclinado, opaco, com coloração verde pálido.
--------------------	---

- *Periodicidade*

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

- *Análise dos resultados*

As cepas inoculadas no material devem apresentar caracteres de crescimento esperados. Caso se constate algum problema, 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;

- Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;

- 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](http://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 0800-0410027 ou pelo e-mail [sac@laborclin.com.br](mailto: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. Módulo7: Detecção e Identificação de Micobactérias de Importância Médica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: ANVISA, 2013. 43p.: il.9 volumes ISBN
- 2- 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
- 3- Difco Manual, 2 edition 2009.
- 4- Koneman, Elmer; *et al.* Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
- 5- Mahon, Connie, Manuselis, 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. Sarvier : São Paulo, 2010.



**Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda**

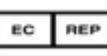
CNPJ 76.619.113/0001-31  
Insc. Estadual 1370012926  
Rua: Casimiro de Abreu, 521  
Pinhais/PR CEP 83.321-210  
Telefone: (41) 3661-9000

[www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br)

**Responsável Técnico:**

Maire Wakamori – CRF/PR-20176  
Serviço de Assessoria ao Cliente  
SAC 0800-0410027  
[sac@laborclin.com.br](mailto: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 óxido 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 da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)