

Finalidade:

Meio seletivo usado para isolamento de *Campylobacter* sp.

Registro ANVISA:

10097010149

Apresentação:

540222 – mCCDA CAMPYLOBACTER AGAR-20mL-PL90X15-10PL

LB 172324
Rev 03 – 09/2024

1. INTRODUÇÃO

O *Campylobacter* faz parte da família *Campylobacteriaceae*, que são bactérias que possuem forma de bastonetes curvos espiralados, gram negativos, não esporogênicas e apresentam motilidade. Seu crescimento necessita de ambiente microaerófilo.

As espécies de *Campylobacter* frequentemente associadas com doenças transmitidas por alimentos são: *C. jejuni* subsp *jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis*, essas espécies são classificadas em um grupo distinto no gênero *Campylobacter* por serem termotolerantes. Apresentando temperatura ótima de crescimento por volta de 42°C e não apresentam crescimento abaixo dos 30°C.

Campylobacter é uma das principais causas de diarreia em humanos veiculadas por alimento. As doenças de origem alimentar provocadas por *C. jejuni* subsp *jejuni* incluem gastroenterites, septicemia, meningites, aborto e síndrome de Guillain-Barré.

O mCCDA Agar possui em sua formulação peptonas que fornecem aminoácidos e caseína hidrolisada que fornece proteínas necessários para o crescimento microbiano. A presença de sulfato ferroso e o piruvato de sódio aumenta a tolerância ao oxigênio.

Para inibir o crescimento de microrganismos competidores o meio apresenta cefoperazona e anfotericina B.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação do mCCDA Ágar	Concentração/L
Caseína hidrolisada	3,0g
Peptona	20g
Carvão ativado	4,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Sulfato ferroso	0,25g
Piruvato de sódio	0,25g
Desoxicolato de sódio	1,0g
Cefoperazona	32mg
Anfotericina B	10mg
Agar	12,0 g

pH 7,4 ± 0,2 a 25°C

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras

- mCCDA *Campylobacter* Ágar é utilizado para pesquisa de *Campylobacter* sp. em fezes, swab retal ou sangue, no caso de suspeita de septicemia.

4. INFORMAÇÕES GERAIS DO PRODUTO

a- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório as placas devem ser armazenadas entre 2°C a 12°C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

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. Como alternativa o laboratório também pode utilizar um dos procedimentos abaixo:

- Secar a água condensada em temperatura ambiente, antes de sua utilização.

- Incubar as placas em estufa (±35°C), antes da sua utilização, para redução do tempo de secagem ou estabilização.

- Secar as placas com as tampas entreabertas em fluxo laminar, antes da sua utilização, 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 à 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.

b- Precauções e cuidados especiais

- O produto destinado ao 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 placas 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;

- Pipetas/ ponteiros estéreis;

- Alça bacteriológica (ou outros aparatos para dispensação de amostra);

- Jarra de atmosfera modificada;

- Gerador de microaerofilia;

- Bico de Bunsen.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

a- Retirar o pacote de placas da geladeira e separar as placas a serem usadas, retornando o pacote à geladeira;

b- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura;

- c- Semear uma alçada da amostra clínica no meio diferencial, realizado estrias em 3 ou 4 quadrantes.
d- Colocar as placas em jarra de atmosfera modificada contendo gerador de microaerofilia;
e- Incubar em estufa bacteriológica a 41,5±1°C por 44±4 horas;
f- Após a incubação, realizar a avaliação do crescimento de colônias suspeitas de *Campylobacter* sp.
g- Fazer um esfregaço em uma lâmina de colônia suspeita e corar com fucsina de Ziehl Neelsen diluída 1/10 (0,1%) ou safranina por 1 minuto.
h- Verificar a morfologia sugestiva de *Campylobacter* – bacilos corados em rosa, delicados, em forma de vírgula ou “asa de gaivota”.
i- Proceder à identificação de colônias conforme procedimento adequado.

7. RESULTADOS

Observar a presença de colônias típicas de *Campylobacter*, em mCCDA *Campylobacter* Ágar as colônias são acinzentadas, geralmente com brilho metálico, planas e úmidas, com tendência ao espalhamento.

Um teste positivo para a oxidase e uma coloração Gram exibindo bastonetes gram-negativos curvos em forma de asa de gaivota, são outras indicações para um isolamento com sucesso. São necessários outros testes para confirmação da identificação.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 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, conseqüentemente, 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 (o crescimento de *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 e *Campylobacter coli* ATCC 33559 pode ser inibido em temperaturas superiores a 42,5°C).
- Incubação em microaerofilia inadequada (o bom crescimento de *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 e *Campylobacter coli* ATCC 33559 é observado na presença de aproximadamente 5% ± 2% de oxigênio e 10% ± 3% de dióxido de carbono). Sachês e jarras para atmosfera controlada devem ser utilizados para incubação (ISO 10272:2017).
- 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.
- Erro na conservação do produto pode ocasionar desidratação do meio e alteração das propriedades dos componentes

9. CONTROLE DE QUALIDADE

- *Materiais necessários*

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

- *Controle de qualidade recomendado:*

Parâmetro	Resultado esperado	Condições de incubação
Produtividade qualitativa <i>Campylobacter jejuni</i> - ATCC 33291 - no meio	Crescimento de colônias acinzentadas,	Incubação: 37°C /4 a 6 horas 41,5°C /44±4 horas

mCCDA	planas e úmidas, às vezes com brilho metálico.	Microaerofilia ideal: ~5%±2% de O ₂ ~10%±3% de CO ₂
Seletividade qualitativa <i>E. coli</i> – ATCC 25922 - no meio mCCDA	Inibição total ou parcial	Incubação: 41,5°C /44±4 horas Microaerofilia ideal: ~5%±2% de O ₂ ~10%±3% de CO ₂
Seletividade qualitativa <i>S. aureus</i> ATCC 25923 - no meio mCCDA	Inibição total	Incubação: 37°C /4 a 6 horas 41,5°C /44±4 horas Microaerofilia ideal: ~5%±2% de O ₂ ~10%±3% de CO ₂
Produtividade qualitativa - <i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 33291 - no meio ágar sangue	Crescimento bom	Incubação: 37°C /4 a 6 horas 41,5°C /44±4 horas Microaerofilia ideal: ~5%±2% de O ₂ ~10%±3% de CO ₂
Meio não inoculado	Coloração negra com superfície brilhosa	

- *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 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 em condições adequadas;
 - 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 até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos junto ao site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou outras informações, contatar o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 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 BIBLIOGRÁFICAS

- ISO 10272-1. Microbiology of the food chain -- Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -- Part 1: Detection method. 2017.
- ISO 10272-2. Microbiology of the food chain -- Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -- Part 2: Colony-count technique. 2017.
- ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1rd ed. The International Organization for Standardization, 2014.
- SILVA, de Neusely; *et al.* Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2017.



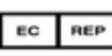
Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

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

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-0410027
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 Européia
	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)