

Finalidade:

Discos impregnados para uso na identificação de estreptococos beta hemolíticos do grupo A (*Streptococcus pyogenes*).

Registro ANVISA:

10097010135

LB 170735
Rev. 13- 08/2024

Apresentação:

640602 - BACITRACINA BA ESTREPTOCOCO FR 25DISCOS

1. INTRODUÇÃO

A primeira prova presuntiva para identificação de estreptococos β -hemolíticos é a hemólise total (beta hemólise) em Ágar Sangue. Os estreptococos β -hemolíticos que forem sensíveis à bacitracina são considerados presuntivamente como pertencentes ao Grupo A de Lancefield. A diferenciação entre *Micrococcus* spp. e os *Staphylococcus* spp. se dá pela coloração de Gram, em que os *Micrococcus* spp. aparecem em tétrades, ou pela pigmentação de suas colônias (amarelas, róseas ou alaranjadas). Alguns não apresentam pigmentos e podem ser diferenciados pela sensibilidade a Bacitracina 0,004 UI, a mesma utilizada na identificação de *Streptococcus pyogenes*, mas utilizando-se a inoculação em ágar Mueller Hinton com 5% de sangue de carneiro.

O teste tem a finalidade de diferenciar *Streptococcus pyogenes* de outras cepas do grupo A ou de outras espécies com colônias β -hemolíticas PYR positivas.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/DISCO
Bacitracina	0,04U

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

3. AMOSTRA

- Usar colônias recentes de estreptococos β -hemolíticos obtidas de cultivos com até 18-24h. Após este prazo as colônias deverão ser repicadas e submetidas a uma nova incubação entre 18- 4h a 35°C. Alguns (raros) estreptococos β -hemolíticos podem apresentar sensibilidade à Bacitracina, assim deve-se observar bem o critério da hemólise.

- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.

- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio

A colônia de estreptococo β -hemolítico é inoculada por estriamento na superfície de uma placa de ágar sangue de carneiro, acrescida de um disco impregnado com Bacitracina, e incubada por 18-24h a 35°C sob tensão de CO₂. Após a incubação pesquisa-se a ocorrência ou não de halo inibitório ao redor do disco.

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório devem ser armazenadas em temperatura de -20 a 8°C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza.

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 ambiente, antes de sua utilização.

A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode expor o produto a contaminações.

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.

c- 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 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.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Swab estéril;
- Ágar sangue de carneiro a 5%;
- Solução salina (NaCl 0,85%) estéril;
- Jarra para produção de tensão CO₂;
- Gerador de tensão de CO₂;
- Bico de Bunsen.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- Deixar o produto adquirir a temperatura ambiente, bem como a placa de Ágar Sangue;
- Inocular assepticamente em um tubo de salina (NaCl 0,85%) estéril, colônias puras do estreptococo β -hemolítico a analisar, de modo a formar uma solução densa (turva);
- Na placa de Ágar Sangue inocular o material proveniente da suspensão em salina por estriamento em sua superfície usando um swab estéril;
- Com o auxílio de uma pinça estéril, adicionar assepticamente à placa o disco de Bacitracina (no centro);
- Colocar a placa de Ágar Sangue em jarra apropriada e produzir uma tensão de CO₂;
- Incubar o material em estufa bacteriológica a 35°C por 18-24h;

g- Após a incubação, verificar a ocorrência de um halo inibitório de crescimento ao redor do disco, medindo-o com régua ou dispositivo adequado.

7. RESULTADOS

A presença de qualquer halo de inibição ao redor do disco é interpretada como sensibilidade a bacitracina e indicativo de *Streptococcus pyogenes*.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 36/2015)

Os resultados falsamente reagentes ou não reagentes, riscos associados à instabilidade, que poderiam levar a resultados errôneos, danos relacionados ao usuário, podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Incubação em temperatura inadequada;
- Tempo de incubação insuficiente;
- Interpretação equivocada de halos de inibição;
- Armazenamento ou transporte de amostra inadequado;
- Agentes etiológicos exigentes com relação aos meios de cultura;
- Necessidade de meios especiais para o crescimento de um agente infeccioso específico;
- Técnica de assepsia inadequada;
- Erro na conservação do material;
- Tempo longo entre a semeadura da amostra e análise;
- Tempo excessivo de incubação;
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas;
- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico;
- Presença de perfis de resistência diferenciados;
- O Meio de ágar sangue utilizado deve conter sangue de carneiro entre 5 a 10%.
- A pré-incubação da placa em estufa por 5 minutos após a inoculação com o swab é importante para remover o excesso de umidade, que pode causar a difusão errática do antibiótico após a implantação dos discos;
- Observar critérios para escolha dos antibióticos apropriados para a bactéria em análise;
- O uso de swabs a base de algodão não é recomendado pela possibilidade dos ácidos graxos naturais presentes no material interferirem no crescimento bacteriano;
- A temperatura de incubação deve ser rigorosamente controlada;
- A não incubação com geradores de CO₂ resulta em resultados falsos;
- O tempo de incubação indicado não deve ser nem abreviado nem aumentado sob risco de se obterem resultados falsamente diminuídos (pouco tempo) ou falsamente aumentados (mais tempo);
- Cerca de 1% dos estreptococos Grupo A são resistentes à Bacitracina;
- Cerca de 10% dos estreptococos Grupos C e G são sensíveis à Bacitracina.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

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

- *Controle de qualidade recomendado:*

Parâmetro	Resultado esperado
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Ausência de halo
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC® 19615	Halo de qualquer tamanho / Cultivar em MHA c/ Sangue e Tensão CO ₂
Discos não inoculados	Discos de 6 mm de diâmetro de coloração branca, com a sigla específica do produto (BA)

- *Periodicidade*

Testar cada novo lote em uso com a cepa padrão (substituindo a amostra por esta) e em periodicidade definida pelo laboratório segundo sua rotina e necessidade.

- *Interpretação e avaliação*

Espera-se que cada cepa testada produza um halo inibitório dentro dos limites estabelecidos para controle.

Considerando que após aberto o frasco a tendência do antibiótico é de ter sua potência diminuída com o passar do tempo, é normal o decréscimo dos valores dos halos de inibição. Uma vez que os valores atinjam pontos muito próximos ou inferiores aos limites mínimos preconizados, recomenda-se que os discos sejam desprezados.

Resultados alterados no controle de qualidade implicam em revisão completa de todos os componentes do sistema analítico. Nestas circunstâncias não se recomenda a liberação dos resultados até que sejam investigadas as causas do desvio de controle.

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. 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. 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. BALOWS A., HAUSLER, W.J. Jr., HERRMANN, K.L., ISENBURG, H.D., SHADOMY, H.J. Manual of clinical microbiology. 5th Ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1991.
2. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1st edition. 1991.
3. FINEGOLD, Sidney; Baron, Ellen Jo. Diagnostico microbiologico. Buenos Aires, Ed. Medica Panamericana, 7a ed, 1989.
4. KONEMAN, Elmer; et al. Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
5. LENETE, Edwin H. Microbiologia clinica, Buenos Aires, Ed. Medica Panamericana, 3a ed , 1982.
6. MAHON, Connie R.; Manuselis Jr, George. Diagnostico microbiology. Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1 sted, 1985.
7. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 4: Detecção e identificação de bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013. 150p.: il.9 volumes ISBN.
8. MURRAY, P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed, American Society for Microbiology 1999.



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)