

Finalidade:

Meio de cultura seletivo e cromogênico destinado ao isolamento de *Streptococcus* do grupo B (*Streptococcus agalactiae*) (GBS) em materiais clínicos.

Registro ANVISA nº MS:

10097010-167

Apresentação:

540221 - GBS CROMOGENICO -AGAR -20mL-PL 90X15-PC 10PL

LB 172296

Rev 05- 09/2024

1. INTRODUÇÃO

Streptococcus agalactiae é encontrado na mulher como saprófita vaginal e comum colonizador retal. A colonização por este microrganismo pode ser transitória, crônica ou intermitente e tem sido isolado em culturas do trato genital e/ou gastrointestinal baixo de mulheres grávidas. Pode colonizar o trato vaginal, urinário e mais frequentemente o trato gastrointestinal sem causar sintomas. Sua maior relevância médica está principalmente, em casos de gestantes colonizadas, que podem vir a contaminar seus filhos no momento do parto e provocar quadros graves de septicemia e meningite nos neonatos, além de endometrite puerperal, amnionite e infecções de feridas na mãe. Muitos neonatos, particularmente prematuros, nascidos de mães colonizadas pelo estreptococo do grupo B e talvez infectadas ainda no útero, podem estar criticamente doentes ao nascer, tendo um baixo prognóstico e uma mortalidade de 15% a 20%.

A infecção neonatal apresenta-se sob duas formas: precoce e tardia. A forma precoce é mais frequente (80%), ocorrendo nos primeiros sete dias de vida, sendo a transmissão por via ascendente antes do parto ou durante a passagem pelo canal de parto. Esta forma evolui como bacteremia, sepse, pneumonia e meningite. Os sintomas surgem na maioria das vezes logo após o nascimento, causando um desconforto respiratório de 35% a 55% dos pacientes. A sepse está presente em torno de 25% a 40% dos casos em evolução para choque séptico em torno de 24 horas de vida. A meningite pode ocorrer de 5% a 15% dos recém-nascidos e a evolução para óbito ocorre geralmente no segundo dia de vida. A forma tardia afeta recém-nascidos de sete dias até doze semanas de idade, sendo que a sua transmissão pode ser vertical, horizontal ou nosocomial. A manifestação clínica mais comum é meningite (30% a 40%), bacteremia (40%), artrite séptica (5% a 10%) e raramente onfalite e osteomielite.

2. COMPOSIÇÃO

Ágar GBS cromogênico *	g/L
Peptonas	28,0
Tampão	5,25
Fatores de crescimento	6,70
Sais inorgânicos	8,50
Mistura antimicrobiana	0,027
Mistura cromogênica	0,30
Agente opacificante	6,5
Ágar Base	15,0
Água deionizada	1L

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

3. MATERIAL

a- Amostras

- Amostras de região anal, vaginal, urina de gestantes ou fluido gástrico de recém-nascidos.
- 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.

Coleta de Amostra Vaginal

- Retirar o swab do tubo (preferencialmente em meio de Amies ou, como segunda opção Stuart, com ou sem carvão). Cuidado para não encostar a área absorvente do swab em nenhum local.
- Sem o uso de espéculo, afastar os grandes lábios vaginais, introduza a ponta absorvente dentro da vagina (cerca de 3 cm, terço distal) fazendo suaves movimentos giratórios. Cuidado para não introduzir o swab além dos 3 cm de profundidade.
- Colocar o swab dentro do tubo com a ponta para baixo, verificando se a ponta absorvente está dentro do meio e feche o tubo.
- Identificar o swab e a descrição: Material Vaginal.

Coleta de Amostra Anal

- Retirar o swab do tubo (preferencialmente em meio de Amies ou, como segunda opção Stuart, com ou sem carvão). Cuidado para não encostar a área absorvente do swab em nenhum local.
- Afastar as nádegas e introduzir toda a ponta do swab dentro do ânus (cerca de 1 cm), fazendo suaves movimentos giratórios.
- Colocar o swab dentro do tubo com a ponta para baixo, verificando se a ponta absorvente está dentro do meio e feche o tubo.
- Identificar o swab e a descrição: Material Anal.

Observações

- No período anterior à coleta, não usar ducha ginecológica.
- Manter abstinência de relação sexual nas últimas 24 horas anteriores à coleta.
- Não fazer uso de antissépticos, medicações tópicas e uso de antibiótico oral. Caso o paciente já esteja fazendo o uso destes medicamentos, deve-se fazer a coleta 48 horas após o término do medicamento tópico e 7 dias no caso de antibiótico oral.
- Não há necessidade de realização de antisepsia prévia.
- Não deve ser realizada coleta cervical e/ou endocervical.

Transporte das Amostras

As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente (20 a 25°C) e encaminhadas ao laboratório no período de até 12 horas após a coleta. Não é necessária a realização de esfregaço para microscopia.

b- Precauções e cuidados especiais

- Produto destinado ao uso diagnóstico *in vitro*;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado.
- Antes de descartar o material usado, invariavelmente, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Para acondicionamento do material usado, recomendamos o uso do Detrilab.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio

A diferenciação das colônias está baseada na formação de colônias de coloração típica. A seletividade está baseada na presença de uma mistura de antibióticos no meio de cultura. As características diferenciais estão baseadas em reações enzimáticas específicas, que permitem a diferenciação de colônias de *Streptococcus agalactiae* (magenta) de outras bactérias não inibidas por agentes seletivos (p.ex. *Enterococcus* spp.) que podem crescer azuis ou incolores.

b- Reagentes

- Meios de cultura distribuídos em placas irradiadas por radiação γ (gama), garantindo o melhor desempenho do produto, a partir de reatores 100% automatizados, garantindo total esterilidade do processo, correta homogeneização e volumes precisos de componentes das fórmulas.

c- Armazenamento e estabilidade

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 ($\pm 35^{\circ}\text{C}$) 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, contaminação ou diminuição de espessura.

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

Para fins de transporte, os produtos podem permanecer em temperatura ambiente por até 72h. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

No laboratório os meios devem ser armazenados em temperatura de 2 a 12°C, condições em que se mantêm estáveis até a data de vencimento, desde que isento de contaminação de qualquer natureza.

d- Precauções e cuidados especiais

- O produto é fornecido estéril. Caso seja evidenciada contaminação microbiana ou a embalagem esteja violada ou danificada antes de seu uso, não utilizar e entrar em contato com o SAC (Serviço de Assessoria ao cliente).

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

- Uso restrito por profissionais de análises clínicas;

- 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;

- Antes de descartar o material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Para acondicionamento do material usado, recomendamos o uso do produto 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 ou fornecidos separadamente)

- Estufa bacteriológica;
- Bico de Bunsen;
- Alças ou agulhas bacteriológicas;
- Caldo Todd Hewitt (quando necessário).

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

a- Retirar da embalagem a quantidade de placas a ser usado e colocar os mesmos em estufa bacteriológica a 33 a 37°C até adquirirem esta temperatura;

b- Retirar as placas da estufa e identificar cada um seguindo os critérios adotados pelo laboratório;

c- As amostras podem ser semeadas diretamente no agar GBS cromogênico, ou, conforme indicação do CDC, inoculadas em caldo Todd Hewitt para pré-enriquecimento para aumentar a sensibilidade do teste. *A semeadura direta no agar GBS cromogênico aumenta a recuperação de microrganismos da microbiota contaminante.*

d- Incubar em estufa entre 35 a 37°C, em atmosfera ambiente.

e- Após a incubação analisar o desenvolvimento de colônias com coloração magenta, características de *Streptococcus agalactiae*.

f- As culturas que apresentarem ausência de crescimento ou crescimento de colônias incolores ou com coloração duvidosa nas primeiras 24 horas devem ser incubadas por mais 24 horas, para avaliação final.

g- Após o tempo e condições ideais de incubação, avaliar as características das colônias e efetuar testes bioquímicos e/ou sorológicos para correta identificação do agente.

h- A pesquisa de *Streptococcus agalactiae* é uma análise qualitativa. A quantidade de crescimento pode apresentar variações, em especial pelo volume de outros microrganismos na mesma amostra.

i- Pode haver crescimento de outros microrganismos que não *S. agalactiae* quando presentes em altas concentrações na amostra ou espécies resistentes aos antibióticos presentes no meio de cultura (p. ex. *Enterococcus* spp.), devendo desenvolver colônias com diferentes colorações, como por exemplo azul ou transparente.

7. RESULTADOS**Relatório**

- Não houve crescimento:

"Ausência de *Streptococcus agalactiae* na amostra analisada após 48 horas de incubação";

- Havendo crescimento:

"Presença de *Streptococcus agalactiae* na amostra analisada após 48 horas de incubação";

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- A identificação obtida com o meio deverá ser considerada como uma identificação presuntiva. Deverá ser confirmado com testes bioquímicos, sorológicos ou outro teste apropriado de identificação.

- É possível que algumas linhagens de *Streptococcus agalactiae* com necessidades específicas de fatores de crescimento possam não crescer. É recomendável o uso do meio de ágar sangue não seletivo em conjunto com o meio GBS cromogênico.

- Algumas espécies (p.ex. *Enterococcus* spp.) que sejam resistentes aos antibióticos possam se desenvolver e produzir colônias com coloração atípica.

- A leitura final e interpretação das colônias deverão ser realizadas ao término de 48 horas de incubação.

- A interpretação dos resultados dos testes deverá levar em consideração a história da paciente, a origem das amostras, as leituras da colônia e aspectos microscópicos e os resultados de outros testes realizados.

- Algumas variações de coloração na colônia, morfologia, tamanho ou intensidade de cor pode ocorrer, devido a características únicas da cepa analisada.

- A qualidade dos resultados de análises microbiológicas é intimamente ligada à qualidade da amostra, as melhores práticas pré-analíticas, como cuidados extremos com a assepsia do processo ou paciente, garantem um melhor resultado.

- Alguns isolados de *S. porcinus* podem desenvolver colônias com coloração magenta.

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

Os resultados falso-negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Técnica de coleta inadequada
- Incubação em temperatura inadequada
- Uso de antimicrobiano prévio
- Utilização de alça flambada não resfriada
- Tempo de incubação insuficiente

- Infecção crônica (infecção pouco ativa)
- 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

Os resultados falso-positivos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Técnica de assepsia inadequada
- Erro na conservação do material
- Tempo longo entre a coleta e análise
- Tempo excessivo de incubação
- Interpretação equivocada de colônias não patogênicas
- 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

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Cepas padrão (ATCC® ou derivadas)

- *Controle de qualidade recomendado:*

Especificação	Resultado esperado
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC® 13813	Crescimento bom, colônias magenta
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Inibição parcial, colônias azuis
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Inibido
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Inibido
Meio não inoculado	Meio opaco, com coloração bege a levemente amarelada.

ATCC® – American Type Culture Collection

- *Periodicidade*

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

- *Análise dos resultados*

As placas de meio GBS cromogênico com cepas padrão devem expressar os resultados 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.

- 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;
- 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

- Centers for Disease Control and prevention Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: Revised Guidelines from CDC, 2010. 59(RR10);1-32.
- Fassina, J.R.; Pimenta- Rodrigues, M.V. 2013. Aspectos Laboratoriais da Identificação de *Streptococcus agalactiae* em Gestantes: Uma Mini-Revisão. Interbio v.7 n.1.
- Kwatra, G.; Madhi, S.A.; Cutland, C.L.; Buchmann, E.J.; Adriana, P.V. 2013. Evaluation of Trans-Vag Broth, Colistin-Nalidixic Agar, and CHROMagar StrepB for Detection of Group B *Streptococcus* in Vaginal and Rectal Swabs from Pregnant Women in South Africa. Journal of Clinical Microbiology. Volume 51, Number 8. p. 2515–2519.
- Louie, L.; Kotowich, L.; Meaney, H. Vearncombe, M.; Simor, A. E. 2010. Evaluation of a New Chromogenic Medium (StrepB Select) for Detection of Group B *Streptococcus* from Vaginal-Rectal Specimens. Journal Of Clinical Microbiology, p. 4602–4603.
- Morita *et al.* 2014. Evaluation of chromID strepto B as a screening media for *Streptococcus agalactiae* BMC Infectious Diseases, 14:46.
- Orenga, S.; James, A.L.; Manafi, M.; Perry J.D.; Pincus, D.H. 2009. Enzymatic substrates in microbiology. Journal of Microbiological Methods 79. 139–155.
- Perry, J.D., Oliver, M., Nicholson, A., Wright, J., Gould, F.K., 2006b. Evaluation of a new chromogenic agar medium for isolation and identification of group B streptococci. Lett. Appl. Microbiol. 43, 615–618.
- Perry, J.D. 2017. A Decade of Development of Chromogenic Culture Media for Clinical Microbiology in an Era of Molecular Diagnostics. Clinical Microbiology Reviews. 30 (2).
- Tazi, A., Doloy, A., Réglier-Poupet, H., Hemet, M.E., Raymond, J., Poyart, C., 2009. Evaluation of the new chromogenic medium StrepB Select for screening of group B Streptococcus in pregnant women. Pathol. Biol. 57, 225–228.
- Xie, Y.; Yang, J.L.; Zhao, P.; Jia, H.; Wang, Q. 2016. Occurrence and detection method evaluation of group B *Streptococcus* from prenatal vaginal specimen in Northwest China. Diagnostic Pathology. 11:8.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

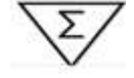
CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone (41) 36619000

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 in vitro.
	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)