



DIAGNÓSTICOS MICROBIOLÓGICOS ESPECIALIZADOS

Av: Antônio Cavasana, 97 - Bairro Concórdia III

Cep: 16013-385 – Araçatuba/SP

Fone: (18) 3621-8670 / 3621-8836

comercial@dme.ind.br – www.dme.ind.br

CNPJ: 65.013.120/0001-79

Resp. Técnico: Antonio Carlos De Fendi – CRBM 1005

REGISTRO MS: 10401600020

AZUL CARBA

DETECÇÃO RÁPIDA DE CARBAPENEMASES DIRETO DE PLACAS DE CULTIVO

INTRODUÇÃO:

Os carbapenêmicos são antimicrobianos de último recurso para o tratamento de infecções bacterianas. O aumento da resistência a estes antimicrobianos tornou-se o maior problema de saúde pública nos dias atuais.

As carbapenemases são as β -lactamases de maior relevância clínica entre os bacilos Gram negativos, constituindo-se no principal mecanismo de resistência em enterobactérias. Capazes de hidrolisar não somente antibióticos carbapenêmicos, mas também os demais anéis beta-lactâmicos presentes nas cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos.

Atualmente três classes de carbapenemases são encontradas em enterobactérias. As metalobetalactamases, sendo os tipos IMP, VIM e NDM, as mais frequentes em enterobactérias. As oxacilinas (OXA-48) e as carbapenemases do tipo KPC.

O procedimento descrito abaixo é um teste bioquímico rápido, altamente sensível e específico que foi validado para a detecção de cepas produtoras de carbapenemases diretamente das placas de cultivo.

APRESENTAÇÃO:

- 02 frascos de 06 ml de Solução Azul de Bromotimol à 0,04% pH 7,0;
- 08 frascos de Imipenem 3mg.

PROCEDIMENTO:

1. Para cada cepa a ser testada utilizar 02 tubos de Eppendorf.
2. Ressuspender o frasco contendo Imipenem com 01 ml de solução de Azul de Bromotimol;
3. Tubo I (controle): Adicionar 200 μ l da solução Azul de Bromotimol;
4. Tubo II (teste): Adicionar 200 μ l da solução de Azul de Bromotimol/Imipenem;
5. Adicionar a cada tubo de Eppendorf uma alça de 10 μ l de colônias crescidas em meio de Mueller Hinton Agar, Tryptic Soy Agar ou Brain Heart Infusion Agar;
6. Fechar os tubos de Eppendorf. Incubar 35°C a 37°C durante 120 minutos agitando constantemente.
7. Realizar leitura a cada 15 minutos.

INTERPRETAÇÃO:

COR: TUBO CONTROLE (AZUL DE BROMOTIMOL)	COR: TUBO TESTE (AZUL DE BROMOTIMOL /IMIPENEM)	INTERPRETAÇÃO
AZUL	AMARELO	CARBAPENEMASE POSITIVO
AZUL	VERDE	CARBAPENEMASE POSITIVO
VERDE	AMARELO	CARBAPENEMASE POSITIVO
AZUL	AZUL	CARBAPENEMASE NEGATIVO
VERDE	VERDE	CARBAPENEMASE NEGATIVO
AMARELO	AZUL, VERDE OU AMARELO	TESTE INVÁLIDO

Tempo de reação para cada mecanismo:

KPC: 2 a 30 minutos;

MBLs (VIM, IMP, SPM): 30 a 60 minutos;

OXAs e NDM: 60 a 120 minutos.

CONTROLE DE QUALIDADE

No teste de eficiência utiliza-se as seguintes cepas padrão:

Klebsiella pneumoniae ATCC BAA1705 - CONTROLE POSITIVO
Stenotrophomonas maltophilia ATCC BAA2423 - CONTROLE POSITIVO
Citrobacter freundii ATCC 8090 - CONTROLE POSITIVO
Escherichia coli ATCC 25922 - CONTROLE NEGATIVO

CONSERVAÇÃO:

Manter ao abrigo da luz.
Conservar de 2°C a 8°C.

LOTE E VALIDADE:

Vide frasco.

NORMAS DE SEGURANÇA / PRECAUÇÕES TÉCNICAS:

Os laboratórios de microbiologia devem atuar sob a égide de normas, para a garantia da segurança dos envolvidos direta e indiretamente. É necessário o manual de Boas Práticas (BPL) para cada setor de Microbiologia visando estabelecer tais prudências:

1. Procedimentos laboratoriais que envolvem materiais biológicos devem ser realizados somente por profissionais qualificados ou por técnicos supervisionados.
2. O fluxo laminar (Capela) é necessário para proteção ante materiais potencialmente infecciosos e garantia da confiabilidade dos resultados.
3. Utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) como barreiras de segurança.
4. Utilização de pipetadores e seus acessórios, descartando-se a possibilidade de qualquer pipetagem com a boca.
5. Numa eventual contaminação, lavar o local com soluções bactericidas utilizadas normalmente: Álcool etílico ou Isopropílico (65% a 85%), compostos quaternários de Amônio ou Fenol de 0,5% a 5%. Retirar as luvas e proceder da mesma maneira.
6. As amostras devem ser transportadas em recipientes apropriados e em condições adequadas.
7. Restringir o uso de seringas ou agulhas somente ao necessário.
8. Equipamentos contaminados: proceder cuidadosa descontaminação de seu reparo e transporte.
9. O material de uso na Microbiologia deve ser autoclavado a 121°C por 30 minutos.

DESCARTE DO MATERIAL:

O descarte deve ser realizado conforme as recomendações vigentes da ANVISA (RDC nº 306, 07/12/2004, D.O.U. 10/12/2004) e do CONAMA (Resolução 28/03/2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Pires J., Novais A., Peixe L. Blue-carba, an easy biochemical test for detection of diverse carbapenemase producers directly from bacterial cultures. J Clin Microbiol. 2013; 51: 4281-3
2. Pasteran F., Veliz O., Lucero C., Rapoport M., Ceriana P., Corso A. Blue Carba Test (BCT) for Rapid Detection of Carbapenemases in Gram-negative Species: Performance against a Panel of Challenging Carbapenemases. 54th ICAAC, Abstract 963; 2014
3. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA): portal.anvisa.gov.br