



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:

- 01 frasco de 16 ml de Solução Azul de Bromotimol à 0,04% pH 7,0;
- 08 frascos de Imipenem 3mg.

PROCEDIMENTO:

1. Ressuspender o frasco contendo Imipenem com 1 (um) ml de solução de Azul de Bromotimol;
2. Para cada cepa a ser testada utilizar 2 tubos de Eppendorf;
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.
8. Após a reconstituição (Azul de Bromotimol + Imipenem), utilizar em até 24 horas. Conservar em temperatura de 2°C a 8°C, ao abrigo da luz.

INTERPRETAÇÃO:

COR: TUBO CONTROLE (AZUL DE BROMOTIMOL)	COR: TUBO TESTE (AZUL DE BROMOTIMOL /IMIPENEM)	INTERPRETAÇÃO
AZUL	AMARELO	CARBAPENEMASE POSITIVO
AZUL	VERDE - AMARELADO	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.

TRANSPORTE

A estabilidade do Kit Azul Carba permanece inalterada por até 10 dias, em temperatura de até 30°C \pm 2°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 Agência Nacional de Vigilância Sanitária, RDC nº 222, de 28 de Março de 2018.

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