



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: 10401600019

POLISENSIDISC ESBL

APRESENTAÇÃO

Caixa contendo 25 unidades de Polisenidisc ESBL.

PRINCÍPIO

Sistema Polisenidisc composto por um módulo contendo cinco antimicrobianos. Sendo eles: Amoxicilina/Ácido Clavulânico, Aztreonam, Ceftazidima, Ceftriaxona e Cefotaxima.

FINALIDADE

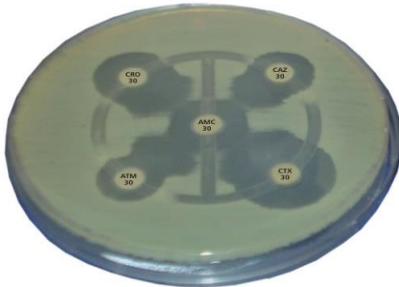
Deteção presuntiva de bactérias ESBL (Beta-lactamase de Espectro Ampliado).

PROCEDIMENTO

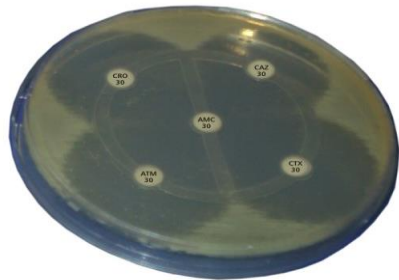
- . As placas de agar Mueller Hinton a serem utilizadas devem estar à temperatura ambiente por 30 minutos antes do uso.
- . Suspender colônias bacterianas em solução salina.
- . Ajustar a suspensão na escala padrão 0,5 de McFarland.
- . Com um Bac-Swab DME, inocular uma placa de agar Mueller Hinton, com a bactéria a ser testada.
- . Deixar secar por 15 minutos e aplicar o Polisenidisc ESBL.
- . Incubar por 18 horas a 35°C.

RESULTADO

O aumento ou distorção da zona de diâmetro ao redor do oxímimo-beta-lactâmico (zona fantasma), sugere a presença de uma ESBL (Beta-lactamase de Espectro Ampliado).



Controle Positivo
K. pneumoniae – ATCC 700603



Controle Negativo
E. coli – ATCC 25922

CONSERVAÇÃO

Manter ao abrigo da luz, conservar de -15°C a -20°C.

Obs.: Os módulos deverão ser abertos no momento do uso.

TRANSPORTE

A estabilidade do Polisenidisc permanece inalterada por até 10 dias, em temperatura de até 30°C.

Lote e Validade: Vide caixa.

Referências Bibliográficas

* Referências CLSI 2020.

TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

Introdução

Para se medir a sensibilidade in vitro das bactérias aos agentes antimicrobianos, podemos utilizar diversas técnicas que estão disponíveis nos dias de hoje. Na grande maioria dos laboratórios clínicos, o teste de difusão em agar é o método de eleição para se testar a sensibilidade das bactérias patogênicas de rápido crescimento. Esta bula inclui uma série de recomendações que ajudarão a padronizar a realização dos testes. As recomendações do International Collaborative Study (ICS) e as proposições da Food and Drug Administration (FDA) foram revistas e as incorporamos a esta bula.

Os métodos que se baseiam somente na verificação da presença ou ausência de uma zona de inibição sem estabelecer um critério quantitativo para a medida do halo não são aceitáveis. Resultados mais confiáveis podem ser obtidos com a medida do halo de inibição sendo correlacionados com a concentração inibitória mínima e o comportamento de cepas conhecidas clinicamente sensíveis e resistentes.

O método do antibiograma recomendado pelo **CLSI** baseia-se no método originalmente descrito por Bauer et al. Este é o método mais exato para os quais foram desenvolvidos tabelas de sensibilidade e resistência e possuem o suporte de dezenas de anos de estudos clínico laboratoriais extensivos. O único método alternativo que possui uma precisão comparável com o antibiograma é o método do Agar Overlay descrito por Barry, Garcia e Thrupp. Este método é uma alternativa aceitável para o teste de cepas como o *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriales*, e *Pseudomonas aeruginosa*. O método não é aplicável para se testar outros microrganismos como o *Streptococcus* spp e os *Haemophilus* spp. O procedimento descrito abaixo é baseado no teste modificado e recomendado pelo CLSI.

Materiais e métodos

1 - Preparar e esterilizar o meio Mueller Hinton agar de acordo com as instruções do fabricante ou fundir o meio comprado pronto com o mínimo de aquecimento. Esfriar a 50°C e distribuir o meio em placas de Petri (aproximadamente 25 ml para placas de 100 mm e 60 ml para placas de 150 mm) de maneira a se obter uma superfície plana e uniforme com a profundidade de 4 mm. Evitar a formação de condensado na tampa e na superfície do meio distribuindo o meio a temperatura de 50°C. Deixar a tampa da placa entreaberta até o endurecimento do meio. Para se operar com mais segurança realizar a operação preferencialmente em capela de fluxo laminar.

O pH final do meio de cultura deverá ser de 7,3 +/- 0,1 a 25°C.

2 - Remover os discos de sensibilidade do freezer ou da geladeira 1 ou 2 horas antes do início do teste e deixar a temperatura ambiente para minimizar a possibilidade de condensação de água nos discos.

3 - Preparar a turbidez padrão de Kirby - Bauer correspondente a 0,5 da escala de Mac Farland adicionando 0,5 ml de uma solução de BaCl₂ 0,048 M a 99,5 ml de uma solução de H₂SO₄ 0,36N. Distribuir em volumes de 5 ml a 10 ml em tubos ou frascos lacrados e renovar a cada 6 meses, manter os tubos no escuro a temperatura ambiente.

4 - Transferir de 4 a 5 colônias isoladas para aproximadamente 5 ml de caldo Mueller Hinton, se a cultura em suspensão resultar em uma turbidez menor que a turbidez padrão, incubar a cultura por 2 a 8 horas entre 35°C a 37°C até que se obtenha a turbidez padrão de Kirby - Bauer.

5 - Mergulhar um swab de algodão não tóxico, de preferência esterilizado por radiação Gama, remover o excesso de meio apertando e girando o swab contra as paredes internas do tubo.

6 - Inocular a superfície total da placa de Petri, semeando em pelo menos 3 sentidos girando a placa em um ângulo de 60°C após cada semeadura. Aplicar os discos de sensibilidade e incubar entre 35°C a 37°C por 18-24 horas. Após este período deve se observar crescimento confluyente de colônias.

7 - Durante o ato da aplicação dos discos pressionar levemente cada disco de sensibilidade com uma pinça estéril de maneira a se assegurar o contacto com a superfície do agar. Observar um espaçamento mínimo de 24 mm para se evitar o overlapping dos halos de inibição.

8 - Medir o diâmetro total da zona de inibição em ml, incluindo o diâmetro do disco. Colocar a placa de Petri a alguns cm de uma superfície escura, iluminando indiretamente, exceto para Linezolid, Oxacilina, e Vancomicina que devem ser lidos com luz direta. O limite do halo de inibição deve ser definido até onde não tenha nenhum crescimento bacteriano óbvio. Ignorar o crescimento fraco das colônias minúsculas que só podem ser detectadas com lente de aumento.

9 - Ignorar o crescimento se os halos não estiverem claramente delineados.

10 - O Trimetoprim e as Sulfonamidas se antagonizam e permitem um leve crescimento ao redor do halo; mede-se somente o halo óbvio na determinação do diâmetro da zona.

Teste de sensibilidade para bactérias fastidiosas

Haemophilus influenzae

1- Preparar o meio HTM (Haemophilus Test Medium) enriquecido com Hemoglobina a 1% e Suplemento VX a 1%.

2- Inóculo: Método de suspensão direta das colônias, equivalente a uma solução padrão 0,5 de McFarland.

3- Incubação: 35°C ± 2°C, CO₂ a 5% de 16 a 18 horas.

Neisseria gonorrhoeae

1- Preparar o Meio de agar GC enriquecido com suplemento VX a 1%.

2- Inóculo: Método de suspensão direta das colônias, equivalente a uma solução padrão 0,5 de McFarland.

3- Incubação: 35°C ± 2°C, CO₂ a 5% de 20 a 24 horas.

Streptococcus pneumoniae ou *Streptococcus* spp

1- Preparar o meio Agar Mueller-Hinton com 5% de sangue de carneiro.

2- Inóculo: Método de suspensão direta das colônias, equivalente a uma solução padrão 0,5 de McFarland.

3- Incubação: 35°C ± 2°C, CO₂ a 5% de 20 a 24 horas.

- Os resultados de sensibilidade para Ácido Nalidíxico, Nitrofurantoína, Sulfonamidas e Trimetoprim se aplicam somente aos microrganismos isolados em infecções do trato urinário.

- A Cefazolina pode ser usada para predir a atividade de antibacterianos orais como Cefalor, Cefdinir, Cefpodoxime, Cefprozil, Cefuroxima, Cefalexinas e Loracarbef, quando utilizados em terapia de UTI. Cefdinir, Cefpodoxime e a Cefuroxime podem ser testados individualmente, visto que algumas cepas podem ser sensíveis a estes antimicrobianos quando resistentes a Cefazolina.

- O *Staphylococcus aureus* resistente à Oxacilina deve ser relatado como sendo resistente às cefalosporinas, cepas de *S. epidermidis* resistentes à Oxacilina também devem ser consideradas resistentes às cefalosporinas.

- O disco de Clindamicina deve ser usado para interpretar o disco de Lincomicina.

- O disco de Penicilina G deve ser usado no teste da sensibilidade de todas as penicilinas sensíveis à penicilinase (Ampicilina, Amoxicilina). Os resultados que caírem na categoria Intermediária devem ser relatados como resistentes, visto que podem ser cepas produtoras de penase. No caso de teste da Penicilina G contra enterococos e outros bacilos Gram negativos a categoria Intermediária refere-se a altas dosagens de Benzilpenicilina por via parenteral.

- O disco de Sulfonamida de 300 µg deve ser testado preferencialmente em Meio Mueller Hinton Agar, visto que o sangue lisado pode inibir a formação do halo; o meio MHM deve ser também livre de timidina.

- Organismos que são sensíveis à Tetraciclina também são considerados sensíveis à Doxiciclina e Minociclina. Entretanto, alguns organismos que são intermediários ou resistentes à tetraciclina podem ser sensíveis à Doxiciclina ou Minociclina ou a ambos.

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 n° 306, 07/12/2004, D.O.U. 10/12/2004) e do CONAMA (Resolução 28/03/2008)