

# POLISENSIDISC

## APRESENTAÇÃO

Caixa contendo 25 unidades de Polisensidisc ESBL.

## PRINCÍPIO

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

## FINALIDADE

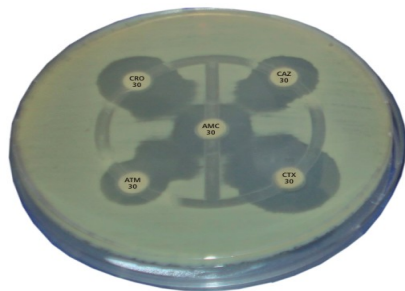
Deteção presuntiva de bactérias ESBL (Beta-lactamase de Espectro Ampliado).

## PROCEDIMENTO

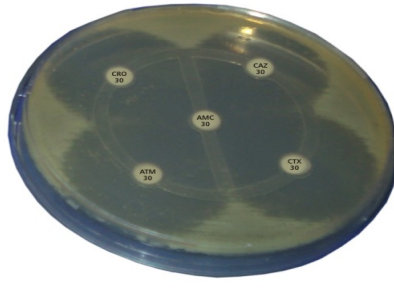
- . As placas de Agar Mueller Hinton a serem utilizadas devem estar à temperatura ambiente.
- . Inóculo: método de cultivo em caldo ou suspensão direta das colônias em soro fisiológico estéril.
- . Ajustar a suspensão na escala padrão 0,5 de McFarland.
- . Com um swab de algodão não tóxico, estéril, inocular uma placa de Agar Mueller Hinton com a bactéria a ser testada.
- . Aguardar cerca de 15 minutos e aplicar o Polisensidisc ESBL, pressionando levemente cada disco de sensibilidade de maneira a assegurar o contato com a superfície do Agar.
- . Incubar por 16 a 18 horas a 35°C ± 2°C.

## RESULTADO

O aumento ou distorção da zona de diâmetro, com a formação de uma zona extra de sinergismo (zona fantasma), sugere a presença de 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 Polisensidisc permanece inalterada por até 10 dias, em temperatura de até 30°C.

**Lote e Validade:** Vide caixa.

## Referências Bibliográficas

\* **Referências CLSI 2025.**

# 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 instrução de uso 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 instrução de uso.

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 desenvolvidas 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 os *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 90 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 15 minutos 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 BaCl<sub>2</sub> 0,048 M a 99,5 ml de uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 (0,5 da escala de Mac Farland). O inóculo também poderá ser obtido da suspensão direta das colônias em soro fisiológico estéril.
- 5 - Mergulhar um swab de algodão não tóxico, estéril. 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 três sentidos, girando a placa em um ângulo de 60°C após cada semeadura. Aplicar os discos de sensibilidade e incubar a 35°C a 37°C entre 16 a 24 horas, de acordo com o período de incubação de cada microrganismo. Após este período deve se observar crescimento confluyente de colônias.
- 7 - Atenção durante a aplicação do suporte certificando-se que os discos estejam em contato com o meio e pressionando bem cada um deles.
- 8 - Medir os halos de inibição, incluindo o diâmetro dos discos, visto da parte posterior da placa de Petri contra um fundo escuro e sob luz refletida. Em placas de Agar sangue remover a tampa e medir os halos. A zona de leitura dos halos deve ser definida como a área que não se observar crescimento visível a olho nu.
- 9 - Ignorar o véu de *Proteus* se os halos não estiverem claramente delineados.

## Teste de sensibilidade para bactérias fastidiosas

### *Haemophilus influenzae* e *Haemophilus parainfluenzae*

- 1- Preparar o meio HTM (*Haemophilus* Test Medium), ao testar *H. influenzae* ou *H. parainfluenzae* ou o meio MH-F Agar (Mueller Hinton Agar com 5% de sangue desfibrinado de cavalo e 20 µg/mL NAD), ao testar *H. influenzae*.
- 2- Inóculo: método de suspensão direta das colônias em soro fisiológico estéril, equivalente a uma solução padrão 0,5 Mac Farland.
- 3- Semear o inóculo, aplicar os discos, incubar as placas a 35°C±2°C, e CO<sub>2</sub> a 5% de 16 a 18 horas. Examinar o crescimento.

### *Neisseria gonorrhoeae*

1. Preparar o meio GC Agar enriquecido com suplemento de crescimento a 1%.
2. Inóculo: método de suspensão direta das colônias em soro fisiológico estéril, equivalente a uma solução padrão 0,5 Mac Farland.
3. Semear o inóculo, aplicar os discos, incubar as placas a 36°C±1°C (não exceder 37°C), e CO<sub>2</sub> a 5% de 20 a 24 horas. Examinar o crescimento.

### *Streptococcus pneumoniae*

1. Preparar o meio Mueller Hinton Agar enriquecido com sangue de carneiro a 5% ou o meio MH-F Agar (Mueller Hinton Agar com 5% de sangue desfibrinado de cavalo e 20µl/mL NAD).
2. Inóculo: método de suspensão direta das colônias em soro fisiológico estéril, equivalente a uma solução padrão 0,5 Mac Farland.
3. Semear o inóculo, aplicar os discos, incubar as placas a 35°C±2°C, e CO<sub>2</sub> a 5% de 20 a 24 horas. Examinar o crescimento.

### *Streptococcus spp.* e *Neisseria meningitidis*

1. Preparar o meio Mueller Hinton Agar enriquecido com sangue de carneiro a 5%.
2. Inóculo: método de suspensão direta das colônias em soro fisiológico estéril, equivalente a uma solução padrão 0,5 Mac Farland.
3. Semear o inóculo, aplicar os discos, incubar as placas a 35°C±2°C, e CO<sub>2</sub> a 5% de 20 a 24 horas. Examinar o crescimento.

## 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: Alcool 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.