



DIAGNÓSTICOS MICROBIOLÓGICOS ESPECIALIZADOS

Av: Antônio Cavasana, 97 - Bairro Concorórdia 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

## APRESENTAÇÃO

Caixa contendo 25 unidades de Polisensidisc, cada unidade composta de 11 antimicrobianos específicos para cada série.

## PRINCÍPIO

Sistema Polisensidisc composto de um módulo circular, contendo em seu anel externo 09 antimicrobianos e anel interno 02 antimicrobianos, totalizando 11 antimicrobianos para cada série.

POLISENSIDISC DME é para ser usado em placas de Petri de 150 mm de diâmetro por 20 mm de altura.

## Pseudomonas/Acinetobacter (P/A) BrCAST

Halos de inibição em mm

Antibacteriano	Código/ Potência µg	Resistente	Intermediário	Sensível
Amicacina	AMI 30			
Para <i>Pseudomonas</i> spp		< 15	15-17	≥ 18
Para <i>Acinetobacter</i> spp		< 17	17-18	≥ 19
Aztreonam para <i>Pseudomonas</i> spp	ATM 30	< 18	-	≥ 18
Cefepime para <i>Pseudomonas</i> spp	CPM 30	< 21	-	≥ 21
Ceftazidima para <i>Pseudomonas</i> spp	CAZ 10	< 17	-	≥ 17
Ciprofloxacina	CIP 05			
Para <i>Pseudomonas</i> spp		< 26	-	≥ 26
Para <i>Acinetobacter</i> spp		< 21	21-49	≥ 50
Gentamicina	GEN 10			
Para <i>Pseudomonas</i> spp		< 15	-	≥ 15
Para <i>Acinetobacter</i> spp		< 17	-	≥ 17
Levofloxacina	LEV 05			
Para <i>Pseudomonas</i> spp		< 22	-	≥ 22
Para <i>Acinetobacter</i> spp		< 20	20-22	≥ 23
Meropenem	MPM 10			
Para <i>Pseudomonas</i> spp		< 18	18-23	≥ 24
Para <i>Acinetobacter</i> spp		< 15	15-20	≥ 21
Piperacilina/Tazobactam para <i>Pseudomonas</i> spp	PIT 30/6	< 18	-	≥ 18
Sulfazotrim (Sulfametoxazol/Trimetoprim) para <i>Acinetobacter</i> spp	SUT 25 (23,75/1,25)	< 11	11-13	≥ 14
Tobramicina	TOB 10			
Para <i>Pseudomonas</i> spp		< 16	-	≥ 16
Para <i>Acinetobacter</i> spp		< 17	-	≥ 17

### 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 BrCAST 2019.

# 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 ágar 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 os 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 BrCAST-EUCAST 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 estreptococos e os *Haemophilus* spp. O procedimento descrito abaixo é baseado no teste modificado e recomendado pelo BrCAST.

## 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  $7,3 \pm 0,2$  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 e 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 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 turbidez padrão, incubar a cultura por 2 a 8 horas a 35°C a 37°C até que se obtenha a turbidez padrão de Kirby e 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 3 sentidos girando a placa em um ângulo de 60° após cada semeadura. Aplicar os discos de sensibilidade e incubar a 35°C a 37°C por 18 a 24 horas. Após este período deve se observar crescimento confluinte 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 contato com a superfície do ágar. Observar um espaçamento mínimo de 24 mm para se evitar o "overlapping" dos halos de inibição.

8. Realizar a leitura, salvo a orientação contrária, ler as bordas dos halos de inibição do ponto em que não há crescimento, visto da parte posterior da placa, contra um fundo escuro e sob a luz refletida.

9. Ignorar o véu de *Proteus* se os halos não estiverem claramente delineados.

## Teste de sensibilidade para bactérias fastidiosas

### *Haemophilus influenzae*

1- Preparar o meio Ágar Mueller Hinton mais 5% de sangue desfibrinado de cavalo e 20mg/L - β NAD (MH-F)

2- Inoculo: método de suspensão direta das colônias, equivalente a uma solução padrão 0,5 Mac Farland.

3- Semear o inóculo, aplicar os discos, incubar as placas a 35°C ± 1°C, CO<sub>2</sub> a 5% de 18 ± 2 horas. Examinar o crescimento.

### *Streptococcus pneumoniae* ou *Streptococcus* spp

1. Preparar o Meio de ágar Mueller Hinton enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de cavalo.

2- Inoculo: método de suspensão direta das colônias, equivalente a uma solução padrão 0,5 Mac Farland.

3. Semear o inóculo, aplicar os discos, incubar as placas a 35°C ± 1°C, e CO<sub>2</sub> a 5% de 18 ± 2 horas. Examinar o crescimento.

## Normas de segurança / precauções técnicas

Os laboratórios de microbiologia devem atuar sob a égide de normas para a garantia de 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. Num 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 esterilizado em autoclave a 121°C por 30 minutos.

## Descarte do material

O descarte deve ser realizado conforme as recomendações vigentes da ANVISA (RDC n° 306, 07/12/2014, D.O.U. 10/12/2014) e do CONAMA (Resolução 28/03/2008).