



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 12

APRESENTAÇÃO

Caixa contendo 25 unidades de Polisensidisc, cada unidade composta de 12 antimicrobianos específicos para cada série.

PRINCÍPIO

Sistema Polisensidisc composto de um módulo circular, contendo em seu anel externo 09 antimicrobianos e anel interno 03 antimicrobianos, totalizando 12 antimicrobianos para cada série.

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

Streptococcus pneumoniae (SP) BrCAST

Halos de inibição em mm

Antibacteriano	Código/ Potência µg	Resistente	Intermediário	Sensível
Ampicilina	AMP 02	< 16	16-21	≥ 22
Clindamicina ¹	CLI 02	< 19	-	≥ 19
Cloranfenicol	CLO 30	< 21	-	≥ 21
Eritromicina ¹	ERI 15	< 19	16-21	≥ 22
Levofloxacina	LEV 05	< 16	-	≥ 16
Linezolida	LNZ 10	< 19	19-21	≥ 22
Oxacilina ²	OXA 01	-	-	≥ 20
Rifampicina	RIF 05	≤ 17	17-21	≥ 22
Sulfazotrim	SUT 25	≤ 10	10-12	≥ 13
Teicoplanina	TEC 30	≤ 17	-	≥ 17
Tetraciclina	TET 30	≤ 22	22-24	≥ 25
Vancomicina	VAN 05	≤ 16	-	≥ 16

1 Os discos de Clindamicina e Eritromicina estão localizados fora dos sítios, para melhor visualização do D-teste.

2 O teste de triagem com Oxacilina 1µg deve ser utilizado para excluir mecanismos de resistência aos betalactâmicos.

CONSERVAÇÃO

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

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

Lote e Validade: Vide caixa.

Referências Bibliográficas

* Referências BrCAST 2019.

TRANSPORTE

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

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 BaCl₂ 0,048 M a 99,5 ml de uma solução de H₂SO₄ 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 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 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, CO₂ 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 CO₂ 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. 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 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).