

POLISENSIDISC 12

APRESENTAÇÃO

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

PRINCÍPIO

Sistema Polisenidisc 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) CLSI

Halos de inibição em mm

Antibacteriano	Código/ Potência µg	Resistente	Intermediário	Sensível
Azitromicina	AZI 15	≤ 13	14-17	≥ 18
Claritromicina	CLA 15	≤ 16	17-20	≥ 21
Clindamicina ¹	CLI 02	≤ 15	16-18	≥ 19
Cloranfenicol	CLO 30	≤ 20	-	≥ 21
Eritromicina ¹	ERI 15	≤ 15	16-20	≥ 21
Levofloxacina	LEV 05	≤ 13	14-16	≥ 17
Ofloxacina	OFX 05	≤ 12	13-15	≥ 16
Oxacilina ²	OXA 01	-	-	≥ 20
Rifampicina	RIF 05	≤ 16	17-18	≥ 19
Sulfazotrim (Sulfametoxazol/Trimetoprim)	SUT 25 (23,75/1,25)	≤ 15	16-18	≥ 19
Tetraciclina	TET 30	≤ 24	25-27	≥ 28
Vancomicina	VAN 30	-	-	≥ 17

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

2 A sensibilidade dos pneumococos aos penicilínicos deve ser determinada com o disco de Oxacilina 01 µg.

CONSERVAÇÃO

Manter no 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 2024.

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 clínicos 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 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 (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 CO₂ 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 CO₂ 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 CO₂ 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 CO₂ 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 n° 222, de 28 de março de 2018.