

## Finalidade:

Discos impregnados para uso na identificação de estafilococos não produtores de coagulase (*Staphylococcus saprophyticus*).

## Registro ANVISA:

10097010135

LB 172011  
Rev. 10 – 08/2024

## Apresentação:

640627 - NOVOBIOCINA-NOV-5µg-ESTAF-FR 25DISCOS

## 1. INTRODUÇÃO

No processo de identificação de estafilococos, a prova de resistência à novobiocina, permite distinguir cepas de *Staphylococcus saprophyticus* de outros estafilococos não produtores de coagulase. Em raras ocasiões, outras cepas resistentes à novobiocina como *S. cohnii* e *S. xylosus*, podem ser isoladas em humanos, devendo-se proceder a outras provas para sua correta identificação. O *S. schleiferi*, é um microrganismo que coloniza pele e orelha de cães e gatos causando infecção de pele nestes animais, sendo assim, causadores de zoonoses, podendo ser confundido com *S. aureus*.

O *Staphylococcus saprophyticus* foi recentemente reconhecido como uma causa significativa de infecções do trato urinário, especialmente em mulheres jovens. No seu esquema de identificação de estafilococos em humanos, Kloos e Schleifer apresentaram a resistência à novobiocina como identificação presuntiva para este microrganismo. Recomendaram a utilização de um disco de novobiocina com 5 µg em ágar P especialmente formulado, contudo, mais tarde, outros investigadores reexaminaram o método e, hoje em dia, o meio Mueller Hinton com 5% de sangue de carneiro é o meio aceito para este teste.

## 2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/DISCO
Novobiocina	5µg

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

## 3. AMOSTRA

### a- Tipos de amostras

- Colônias recentes de estafilococos não produtores de coagulase.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

## 4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

### a- Princípio

A resistência à novobiocina é o parâmetro que diferencia os estafilococos coagulase negativos clinicamente significativos das espécies com menor significado clínico. O método baseia-se no teste de difusão em disco de antibiótico, de Bauer e Kirby.

### b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório os discos devem ser armazenados em temperatura de -20 a 8°C, condições em que se mantêm estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza.

### c- Precauções e cuidados especiais

- O produto é destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos DetriLab;
- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222, de 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

## 5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Pinça;
- Estufa bacteriológica;
- *Swab* estéril;
- Escala de Mac Farland;
- Ágar Mueller Hinton com 5% de sangue de carneiro;
- Solução salina (NaCl 0,85%) estéril;
- Bico de Bunsen.

## 6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- Deixar o produto adquirir a temperatura ambiente, bem como a placa de ágar Mueller Hinton com 5% de sangue de carneiro.
- Inocular assepticamente em um tubo de salina (NaCl 0,85%) estéril, colônias puras do microrganismo a analisar, de modo a formar uma solução com turvação equivalente a Escala 0,5 de Mac Farland;
- Na placa de ágar Mueller Hinton com 5% de sangue de carneiro, inocular o material proveniente da suspensão em salina por estriamento em sua superfície usando um *swab* estéril;
- Com o auxílio de uma pinça estéril, adicionar assepticamente à placa o disco de novobiocina, pressionando os mesmos com cuidado;
- Incubar o material em estufa bacteriológica a 35°C por 18-24h;
- Medir o diâmetro dos halos na zona de inibição com régua apropriada, a utilização de paquímetro é recomendada.
- Realizar a interpretação do halo, conforme tabela abaixo:

## 7. RESULTADOS

Halo	Interpretação
> 16mm	Sensível
< ou = 16 mm	Resistente

O *Staphylococcus saprophyticus* é resistente a novobiocina com halos de inibição, em geral, inferiores a 12 mm.

OBS: Há possibilidade de se isolar clinicamente cepas de *S. cohnii* e *S. xylosus* que são resistentes à novobiocina.

**8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO***(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)*

Os resultados falsamente reagentes ou não reagentes, riscos associados à instabilidade, que poderiam levar a resultados errôneos, danos relacionados ao usuário, podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Incubação em temperatura inadequada.
- Tempo de incubação insuficiente.
- Interpretação equivocada de halos de inibição.
- Armazenamento ou transporte de amostra inadequado.
- Agentes etiológicos exigentes com relação aos meios de cultura.
- Necessidade de meios especiais para o crescimento de um agente infeccioso específico.
- Técnica de assepsia inadequada.
- Erro na conservação do material.
- Tempo longo entre a semeadura da amostra e análise.
- Tempo excessivo de incubação.
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas.
- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico.
- Presença de perfis de resistência diferenciados.
- O Meio de Agar Mueller Hinton com 5% de sangue de carneiro, utilizado deve estar com pH e composição química adequada.
- As placas devem ter espessura entre 4 e 5 mm (se a camada for muito espessa os halos diminuem, e se for muito delgada, os halos aumentam).
- Inóculos mais carregados (acima do padrão 0,5 da escala Mac Farland) fornecem resultados falsamente diminuídos e inóculos mais fracos resultados falsamente aumentados.
- A pré-incubação da placa em estufa por 5 minutos após a inoculação com o *swab* é importante para remover o excesso de umidade, que pode causar a difusão errática do antibiótico após a implantação dos discos.
- Observar critérios para escolha dos antibióticos apropriados para a bactéria em análise.
- O uso de *swabs* a base de algodão não é recomendado pela possibilidade dos ácidos graxos naturais presentes no material interferirem no crescimento bacteriano.
- A temperatura de incubação deve ser rigorosamente controlada.
- A não incubação com geradores de CO<sub>2</sub> resulta em resultados falsamente aumentados.
- O tempo de incubação indicado não deve ser nem abreviado nem aumentado sob risco de se obterem resultados falsamente diminuídos (pouco tempo) ou falsamente aumentados (mais tempo)
- Há possibilidade de se isolar clinicamente cepas de *S. cohnii* e *S. xyloso* que são resistentes à novobiocina.

**9. CONTROLE DA QUALIDADE***- Materiais necessários*

*Cepas padrão: ATCC® (American Type Culture Collection) ou derivadas).*

*- Controle de qualidade recomendado:*

Parâmetro	Resultado esperado
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228	> 16mm
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC® 35552	< ou = 16 mm
<i>Discos não utilizados</i>	Discos de 6 mm de diâmetro, coloração branca, com a sigla do produto (NOV 5mcg). O indicador de umidade deve estar azul.

*- Periodicidade*

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

*- Interpretação e avaliação*

Espera-se que cada cepa testada produza um halo inibitório dentro dos limites estabelecidos para controle.

Considerando que após aberto o frasco a tendência do antibiótico é de ter sua potência diminuída com o passar do tempo, é normal o decréscimo dos valores dos halos de inibição. Uma vez que os valores atinjam pontos muito próximos ou inferiores aos limites mínimos preconizados, recomenda-se que os discos sejam desprezados.

Resultados alterados no controle de qualidade implicam em revisão completa de todos os componentes do sistema analítico. Nestas circunstâncias não se recomenda a liberação dos resultados até que sejam investigadas as causas do desvio de controle.

*- Análise dos resultados*

As cepas testadas devem produzir um halo inibitório dentro dos limites estabelecidos para controle. Caso se constate algum problema ou diferença, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

**10. GARANTIA DA QUALIDADE**

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
  - Os materiais estejam sendo armazenados em condições adequadas;
  - Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.
- Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site [www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br). Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, contatar o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus para o cliente.

**11. REFERÊNCIAS**

1. ALMEIDA, R.J., and J.H. Jorgensen. Use of Mueller Hinton agar to determine novobiocin susceptibility of coagulase negative staphylococci. J. Clin. Microbiol. 16: 1155-1156. 1982.
2. ANDERSON, J.D., A.M. Clarke, M.E. Anderson, J.L. Isaac-Renton, and M.G. McLoughlin. Urinary tract infections due to *Staphylococcus saprophyticus* biotype 3. Can. Med. Assoc. J. 124: 415-418. 1981.
3. Difco Manual, 2 ed., 2009.
4. DUCATE, M.J., and D.B. Florek-Ebeling. 1983. An evaluation of the novobiocin disc diffusion method for identifying clinical isolates of *Staphylococcus saprophyticus*. Am. J. Med. Tech. 49: 509-512. 1983.
5. KONEMAN, Elmer; et al. Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
6. LENNETTE, E.H., A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and J.P. Truant (ed.). Manual of clinical microbiology, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1980.
7. MAHON, Connie, Manuselis, George Jr. Diagnostic Microbiology. Saunders, USA, 1995.
8. MARRIE, T.J., C. Kwan, M.A. Noble, A. West, and L. Duffield. *Staphylococcus saprophyticus* as a cause of urinary tract infections. J. Clin. Microbiol. 16: 427-431. 1982.
9. MURRAY, P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed, American Society for Microbiology 1999.
10. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6: Detecção e identificação de bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013. 150p.: il.9 volumes ISB.
11. WALLMARK, G., I. Arremark, and B. Telander. *Staphylococcus saprophyticus*: a frequent cause of acute urinary tract infection among female outpatients. J. Infect. Dis. 138: 791-797.1978.



**Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda**  
 CNPJ 76.619.113/0001-31  
 Insc. Estadual 1370012926  
 Rua Casimiro de Abreu, 521  
 Pinhais/PR CEP 83.321-210  
 Telefone 041 36619000  
[www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br)

**Responsável Técnico:**  
 Maire Wakamori – CRF/PR-20176  
 Serviço de Assessoria ao Cliente  
 SAC 0800-0410027  
[sac@laborclin.com.br](mailto:sac@laborclin.com.br)

## ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Européia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)