

Finalidade:

Avaliar a sensibilidade ou resistência aos agentes antimicrobianos, impregnados em discos de papel com diâmetro de 6 mm, em crescimento de cultivos bacterianos por difusão em ágar conforme a Técnica de Kirby & Bauer.

Registro ANVISA:

10097010128

LB 170739
Rev. 15 – 08/2024

1. INTRODUÇÃO

O antibiograma, também conhecido por Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA), é um exame capaz de determinar a sensibilidade da bactéria aos antibióticos, podendo indicar ao médico qual o antibiótico mais aconselhado para tratar a infecção do paciente. A metodologia de Kirby & Bauer para antibiograma é a mais difundida e utilizada até hoje pela sua simplicidade de execução e baixo custo em relação a outras metodologias. Os monodiscos são ofertados em frascos contendo 50 discos.

2. AMOSTRA

- *Tipo de amostra*

Colônias puras provenientes de cultivo bacteriano recente, de 18-24h.

- *Armazenamento e estabilidade*

As amostras mantêm-se viáveis para a execução das análises até cerca de 24h de cultivo. Além deste prazo, deve-se fazer repique da cepa, cultivar por mais 24h para depois proceder ao exame.

- *Critério para rejeição*

As amostras que já ultrapassaram o prazo máximo de estabilidade devem ser rejeitadas para análise, devendo ser repicadas em meio apropriado, e usadas as colônias que surgirem após 18-24h de incubação no repique.

3. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- *Princípio da técnica*

O processo consiste em se preparar uma suspensão de bactérias de cultivo recente, inocular esta suspensão na superfície de uma placa de Mueller Hinton Ágar, ou meio enriquecido preconizado pela técnica adotada e posteriormente adicionar os discos de papel impregnados com antibióticos. Após a incubação em estufa, é analisado o padrão de crescimento ou inibição ao redor de cada disco, sendo então medido o tamanho de cada halo e o resultado pesquisado em tabelas apropriadas segundo a espécie bacteriana em análise.

b- *Reagentes*

Discos de papel-filtro impregnados com antibióticos de concentração específicos. Cada disco possui impresso em uma de suas faces seu código e o valor numérico de sua concentração. Consultar a tabela contendo a formulação dos discos, código, concentração, halos esperados e halos relacionados às cepas padrão.

c- *Armazenamento e estabilidade*

Durante o recebimento do produto no laboratório, sugere-se colocar os produtos imediatamente nas condições de armazenamento indicadas no rótulo, -20 a 8°C ou em *freezer* (-20°C). Para fins de transporte deve seguir o especificado em rótulo de cada item.

d- *Precauções e cuidados especiais*

- Antes do uso, deve-se deixar os discos atingirem temperatura ambiente antes de serem abertos (a abertura precoce dos mesmos pode causar condensação de água no interior do frasco e

consequente inativação do antibiótico como a diminuição da sua atividade);

- A manipulação dos discos de antibióticos deve ser realizada com auxílio de pinça esterilizada;

- Não deixar o frasco desnecessariamente aberto ou por longos períodos em temperatura ambiente (pode haver inativação do produto);

- *A validade do produto expressa em rótulo refere-se ao frasco fechado e com o vácuo intacto. Após sua abertura, a validade do produto fica condicionada às boas condições de armazenamento e manipulação. Recomenda-se, portanto a execução do controle de qualidade com cepas padrão, e detectados desvios referentes aos discos, estes deverão ser descartados e substituídos (esta regra aplica-se principalmente aos discos de conservação em freezer).*

- O produto destina-se ao uso diagnóstico *in vitro*;

- O material usado deverá ser descartado após sua esterilização pelo calor úmido a 121°C (autoclave) por 20 minutos a 1 atm. Para acondicionamento do material usado recomendamos o uso do Dextrilab (códigos 570668 ou 570670);

- Não é recomendado usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado.

- 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.

4. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;

- Pinça;

- Alças bacteriológicas;

- Ágar Mueller Hinton ou meio enriquecido equivalente;

- Escala 0,5 Mac Farland e solução salina estéril (NaCl 0,85%);

- *Swabs* estéreis para espalhamento da suspensão;

- Bico de Bunsen.

5. PROCEDIMENTO TÉCNICO

Realizar o procedimento seguindo a Técnica de Kirby & Bauer, de acordo com os padrões estabelecidos pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e/ou pela Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).

6. RESULTADOS

Com o auxílio de uma régua, paquímetro ou dispositivo semelhante, medir o diâmetro dos halos inibitórios de cada disco, e consultar a referência utilizada para determinar se a bactéria em análise é sensível ou não ao antibiótico testado.

7. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

Os resultados falsamente aumentados ou diminuídos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Incubação em temperatura inadequada;
- Uso de antimicrobiano e/ou antifúngico prévio;
- Utilização de alça flambada não resfriada;
- 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 Mueller Hinton utilizado ou meio enriquecido equivalente deve estar com pH e composição química adequada (ions cálcio, ions magnésio, timina e timidina);
- As placas devem ter espessura em torno de 4 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;
- Aguardar para que os materiais atinjam a temperatura ambiente no momento do uso;
- 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;
- 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);
- Para as placas com diâmetro de 90 mm recomenda-se a colocação de no máximo 5 discos, já para a placa com 140 mm podem ser colocados até 12 discos. Esta sugestão visa impedir que o contato muito próximo entre os discos forneça distorções ligadas a sinergismo ou outros tipos de interação entre os antibióticos.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- Realizado conforme certificado de análise de cada antibiótico seguindo os padrões da CLSI e BrCAST.

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 nas condições indicadas;
 - 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 conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo.
- Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br.
- Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente

através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br.

Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS

- 1- Gutiérrez, A. E., Importância del medio de cultivo sobre el tamaño del halo de inibición en las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos. Investigación Médica Internacional (1977) 4, Suplemento (1).
- 2- Organización Mundial de la salud. Standardization of methods for conducting microbic sensitivity testes. Second report of the Expert Committee on antibiótics. Who technical report series nº 210, Geneve, 1961.
- 3- Bauer, A. W. Kirby W. M. Sherris, J. C. and Turck, M.: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Americ J. Clin. Path. 45:493-496, 1966.
- 4- Montelli, A. C. Toledo, M. R., Ribeiro da Silva, M. L. Importância do diagnóstico etiológico das infecções e da sensibilidade dos agentes bacterianos às drogas. Informações Técnico-Científica. Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1980.
- 5- Kluge, R. M.: Accuracy of Kirby-Bauer susceptibility tests read at 4,8 and 12 hours of incubation, comparis on with readings at 18 to 20 hours. Antimicrob. Agents Chemother, 8:139-145, 1975.
- 6-Lorian, V. A., five-hour disc antibiotic susceptibility test. Significance of Medical Microbiology in care the patients. Willians & Wildoins Co., Balmore, 1977.

APRESENTAÇÕES

640825 AMPICILINA 2µg-BRCAS-TFR 50DISCOS
 640822 CEFOTAXIMA 5µg-BRCAS-TFR 50DISCOS
 640823 CEFATAZIDIMA 10µg-BRCAS-TFR 50DISCOS
 640826 GENTAMICINA 30µg-BRCAS-TFR 50DISCOS
 640829 LINEZOLIDA 10µg-BRCAS-TFR 50DISCOS
 640821 NITROFURANTOINA 100µg-BRCAS-TFR 50DISCOS
 640828 PENICILINA 1UI-BRCAS-TFR 50DISCOS
 640820 PIPERACILINA/TAZ 30/6µg-BRCAS-TFR 50DISCOS
 641207 POLIMIXINA B 300UI-FR 50DISCOS
 640827 VANCOMICINA 5µg-BRCAS-TFR 50DISCOS
 640603 ACIDO NALIDIXICO 30µg-FR 50DISCOS
 640604 AMICACINA-AMI 30 µg-FR 50DISCOS
 641201 AMOXICILINA/AC.CL20/10µg-FR50DISCOS
 641203 AMPICILINA/SULB. 10/10µg-FR 50DISCOS
 640605 AMPICILINA 10 µg-FR 50DISCOS
 640800 AZITROMICINA 15 µg-FR 50DISCOS
 640200 AZTREONAM 30 µg-FR 50DISCOS
 640801 CEFACLOR 30 µg-FR 50DISCOS
 640608 CEFALOTINA 30 µg-FR 50DISCOS
 640802 CEFAZOLINA 30 µg-FR 50DISCOS
 640106 CEFEPIME 30 µg-FR 50DISCOS
 641230 CEFOTAXIMA 30 µg-FR 50DISCOS
 640609 CEFOTAXINA 30 µg-FR 50DISCOS
 640102 CEFATAZIDIMA 30 µg-FR 50DISCOS
 641232 CEFTRIAXONA 30 µg-FR 50DISCOS
 640805 CEFUROXIMA 30 µg-FR 50DISCOS
 640100 CIPROFLOXACIN 5 µg-FR 50DISCOS
 640104 CLINDAMICINA 2 µg-FR 50DISCOS
 640610 CLORANFENICOL 30 µg-FR 50DISCOS
 640808 DOXICICLINA 30µg-FR 50DISCOS
 640612 ERITROMICINA 15 µg-FR 50DISCOS
 641206 ESTREPTOMICINA 300µg-FR25DISCOS
 640613 GENTAMICINA 10 µg-FR 50DISCOS
 641204 GENTAMICINA 120 µg-FR 25DISCOS
 640201 IMPENEM 10 µg-FR 50DISCOS
 640811 LEVOFLOXACIN 5 µg-FR 50DISCOS
 640813 MEROPENEM 10 µg-FR 50DISCOS
 640614 NITROFURANTOINA 300µg-FR 50DISCOS
 641234 NORFLOXACIN 10 µg-FR 50DISCOS
 640615 OXACILINA 1 µg-FR 50DISCOS
 640616 PENICILINA G 10U-FR 50DISCOS
 641205 PIPERACILINA/TAZ.100/10µg-FR50DISCOS

640109 RIFAMPICINA 5 µg-FR 50DISCOS
640619 SULFAZOTRIM 25 µg-FR 50DISCOS
640814 TEICOPLANINA 30 µg-FR 50DISCOS
640621 TETRACICLINA 30 µg-FR 50DISCOS
640622 TOBRAMICINA 10 µg-FR 50DISCOS
640815 TRIMETOPRIM 5µg-FR 50DISCOS
640630 VANCOMICINA 30 µg-FR 50DISCOS



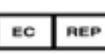
Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31
Insc. Estadual 1370012926
Rua Casimiro de Abreu, 521
Pinhais/PR CEP 83.321-210
Telefone (41) 3661-9000
www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176
Serviço de Assessoria ao Cliente
SAC 0800-0410027
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)