

Indicações

POLICIMBAC é um sistema de microdiluição destinado à determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de polimixina B para Bacilos Gram Negativos multirresistentes.

Apresentação



PCIMP



Caixa com 10 microplacas de titulação e 1 Frasco com 18 mL de Solução Reveladora.

Apresentação do Painel

A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	

Cada microplaca tem 2 linhas, com 12 cavidades por linha e capacidade para 2 testes. Com concentrações que variam de 0,125 a 64 µg/mL de polimixina B e controle de crescimento (CC).

Composição

Caldo Mueller Hinton, Cloreto de 2,3,5-Trifeniltetrazólio, polimixina B e Água Purificada.

Princípio

O aumento da resistência microbiana de Bacilos Gram Negativos a Carbapenêmicos tem levado ao uso de polimixinas para o tratamento de infecções causadas por estas bactérias. Porém, tem sido descrito o aparecimento de resistência destes Bacilos também à polimixina B. Os mecanismos desta resistência são variados e podem ser tanto cromossômicos como plasmidiais.

Estudo recente feito no Brasil mostra que para *Klebsiella pneumoniae* resistente a Carbapenêmicos, a resistência à polimixina B tem aumentado de 0% em 2011 a 27,1% em 2015⁽¹⁾. Estas cepas têm sido denominadas como CPRKp. Para detectar esta resistência, os métodos de disco difusão não são adequados pela má difusibilidade da polimixina B em Agar. O POLICIMBAC permite determinar a CIM da polimixina B pelo método de microdiluição, em concentrações que variam de 0,125 µg/mL a 64 µg/mL⁽²⁾.

Controle de Qualidade

Todos os lotes são submetidos a testes de esterilidade e desempenho com cepas padrões ATCC, conforme descrito na tabela a seguir:

Cepas	CIM (µg/mL)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,25 - 2
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0,5 - 2

Todos os documentos pertinentes a este produto como Certificado de Análise, FISPQ e Bula estão disponíveis no site www.probac.com.br.

Procedimento

Preparo da amostra:

A amostra a ser testada deve ser obtida e manipulada de acordo com os procedimentos padronizados para microbiologia. O isolado microbiano deve ser fresco para um melhor desempenho do teste. Recomenda-se utilizar isolado com no mínimo 18 a 24 horas de incubação.

Procedimento:

- 1) Vista luvas para o procedimento;
- 2) Deixe o Kit e seus componentes em temperatura ambiente antes do uso, por pelo menos 10 minutos;
- 3) Remova a microplaca da embalagem plástica e reserve a embalagem;

Preparo do inóculo:

- 4) Preparar uma suspensão com o isolado microbiano a ser testado, utilizando água estéril (AE) ou solução fisiológica (SF);
- 5) A suspensão bacteriana deve seguir a escala de 0,5 do padrão de MacFarland (equivalente a 10⁸ UFC/mL), identifique como **Tubo 1**;
- 6) A partir do **Tubo 1** faça uma diluição de 1:100 (cem vezes), e a suspensão terá a concentração final de 10⁶ UFC/mL, que será o **Tubo 2**.
- 7) A partir do **Tubo 2**, faça uma diluição de dez vezes (1:10) em outro tubo, este será chamado de **Tubo 3** e a concentração final será de 10⁵ UFC/mL.
- 8) Siga o esquema de diluição conforme figura 1:

TUBO 1	TUBO 2	TUBO 3
		
Escala 0,5 MF = 10 ⁸ UFC/mL	50 mcl do tubo 1 + 4.950 mcl de SF estéril = 10 ⁶ UFC/mL	500 mcl do tubo 2 + 4.500 mcl de SF estéril = 10 ⁵ UFC/mL

Esquema de diluição da suspensão bacteriana.

Correndo o Teste:

- 9) Com o auxílio de uma micropipeta, transfira 100 µL da suspensão do **tubo 3** para as cavidades da microplaca;
- 10) Comece dispensando o volume na cavidade de controle de crescimento (CC), em seguida preencha todas as cavidades, da menor concentração para a maior;
- 11) Recoloque a embalagem plástica na microplaca e incube por 24hs, em condições de aerobiose a 35,0°C ± 2,0°C.
- 12) Após o período de incubação, adicione 1 gota de solução reveladora em cada cavidade e retorne para estufa por mais 20 minutos;
- 13) Retire da estufa e realize a leitura;
- 14) A cavidade com coloração avermelhada apresenta crescimento de microrganismo, verifique o item interpretação dos resultados.

Interpretação dos Resultados:

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) será a primeira concentração onde não houver crescimento bacteriano (ver exemplo da figura abaixo). O resultado deve ser liberado em µg/mL.



CIM: 1 µg/mL

A	O	O	O	O	O	O	O	●	●	●	●	O
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	
B	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	

Exemplo ilustrativo do painel em teste com a cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, resistente a concentração de 0,50 µg/mL e sensível a concentração de 1 µg/mL de polimixina B.

São considerados microrganismos resistentes os que apresentam o CIM maior que 2 µg/mL. Ver exemplo abaixo.

CIM: 2 µg/mL

A	O	O	O	O	O	●	●	●	●	●	O	
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	
B	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	

Exemplo de microrganismo resistente a concentração 1 µg/mL de polimixina B, CIM de 2 µg/mL.

Se após o período de incubação, a microplaca apresentar crescimento apenas na cavidade de controle de crescimento (CC) e ausência de crescimento nas cavidades com concentrações de polimixina B, indica que o microrganismo testado é sensível a concentração 0,125 µg/mL de polimixina B, ver figura abaixo:

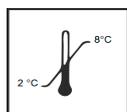
A	O	O	O	O	O	O	O	O	O	●	O	
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	
B	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	

Ausência de crescimento nas cavidades com concentrações de polimixina B.

Notas:

- 1) Para microrganismos do gênero *Acinetobacter spp*, o período de incubação após a adição de solução reveladora deve ser de 1 hora em estufa aeróbica a 35,0°C ± 2,0°C, para melhor visualização.
- 2) Não utilize cepas polimicrobianas. Sugere-se confirmar a pureza e identificação das cepas que apresentarem CIM alto e que não são frequentemente isoladas, antes da liberação oficial do resultado.
- 3) A intensidade de coloração avermelhada após período de incubação não depende do número de bactérias inoculadas.
- 4) Um controle interno está incluído no teste, o controle de crescimento (CC). Se o mesmo não apresentar coloração avermelhada após o período de incubação, indica que o microrganismo não está viável para o teste.

Conservação



Manter entre 2° e 8°C.

Validade



4 meses a partir da data de fabricação.

Precauções

Após a realização dos testes, este material deverá ser descartado conforme as recomendações vigentes para resíduos de serviços de saúde.

Produto com cadastro no Ministério da Saúde nº 10104030073, podendo ser utilizado para diagnóstico clínico de acordo com a RDC nº 36 de 26 de Agosto de 2015.

Referências Bibliográficas

- 1 - Bartolleti F, Seco B, M.S., Dos Santos C.C., Felipe C.B., Lemo M.E.B., Alves T.S., Passadore L.F., Mimica M.J., Sampaio S.C.F., Savascki A.P., Mello Sampaio J.L.: Polymyxin B Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*, São Paulo, Brazil. Emerging Infectious Diseases Vol 22, N 10, October 2016. www.cdc.gov/eid.
- 2 - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters version 6.0 cited august 2016 <http://www.eucast.org>
- 3 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement (M100–S25). Wayne (PA): The Institute; 2015.
- 4 - ANVISA: Comunicado de risco N°01/2016-GVIMS/GGTES/ANVISA

