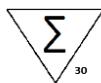


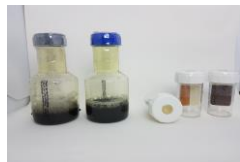
Indicações

Conjunto de Laminocultivo e Caldo enriquecido, com adição de Neutralizadores de Antibióticos (NA) e Substâncias Redutoras, destinado à cultura de microrganismos anaeróbios em Sangue, Hemocomponentes, Líquidos Corpóreos e Nutrição Parenteral.

Apresentação



HATINF e HPTINF



Caixa contendo 30 frascos de Laminocultivos e 30 frascos com caldo enriquecido para anaerobiose e NA, nas apresentações Adulta (45 mL) ou Pediátrica (30 mL).

Composição

Laminocultivo: Face larga; Agar Chocolate suplementado, Face dividida direita; Agar MacConkey, Face dividida esquerda; Agar Sabouraud e Água Purificada.

Caldo enriquecido: Tryptic Soy Broth (TSB), Polianetol Sulfonato Sódico (SPS), Neutralizadores de Antibióticos (NA), Substâncias redutoras, Fatores de crescimento microbiano e Água Purificada.

Princípio

O Sistema Hemobac Trifásico é um produto destinado à realização de culturas de Sangue e seus componentes, Stem Cells (células tronco), Líquidos corpóreos e Nutrição Parenteral (inclusive em casos de suspeita de bacteremia). O sistema é composto por um Laminocultivo com 2 faces acoplado à parte superior de um recipiente plástico contendo Caldo enriquecido. Os meios de cultura que compõem o conjunto detectam o crescimento de microrganismos anaeróbios presentes na amostra.

Caldo suplementado Trifásico, promove o crescimento de microrganismos anaeróbios, devido à riqueza de nutrientes e substâncias redutoras que promovem atmosfera anaeróbia no meio. O SPS possui efeito anticoagulante impedindo a formação de coágulos durante a inoculação de amostras de sangue.

Meios de cultura sólidos que permitem o crescimento presuntivo de microrganismos específicos, em meio Agar Chocolate, Agar Sabouraud e Agar MacConkey.

Indicador de CO₂, detecta a presença de gás no interior do frasco (subproduto do metabolismo microbiano) ocasionando a alteração de coloração de amarelo para rosa intenso a vermelho.

A parte superior (Laminocultivo) é comercializada desconectada da parte inferior (caldo). A conexão pode ser realizada no momento da chegada do frasco ao laboratório independente do tempo decorrido da coleta. A conexão dos frascos deve ser realizada antes da incubação do sistema.

Possui duas apresentações, Adulta (45 mL) e Pediátrica (30 mL), visando manter a proporção amostra/caldo, de acordo com a quantidade possível de coleta.

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	Crescimento	Sensibilidade
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Bom	1 UFC/mL
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Bom	

*500 mL de Inóculo 10⁷ UFC/mL

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

Procedimento

1. Coleta

- 1) Para inocular a amostra, no momento imediatamente antes da coleta, desinfetar o sítio de injeção do frasco com Álcool 70%, Álcool Iodado, Clorexidina alcoólica ou PVPI. Esperar pelo menos um minuto para o Álcool a 70%, Álcool iodado e para a Clorexidina alcoólica e PVPI 2 minutos. O algodão, gaze ou sachê utilizado na assepsia da pele não deve ser o mesmo utilizado para a assepsia do frasco;
- 2) Inocular com seringa e agulha, preferencialmente nas quantidades de: 10,0 mL para pacientes adultos (acima de 13 Kg) ou volumes entre 5,0 mL e 10,0 mL. Nos frascos pediátricos: inocular preferencialmente nas quantidades de: 0,5 a 2,0 mL para recém-nascidos até 2,0 Kg e células-tronco (stem cells). Para crianças (entre 2,0 e 12,9 Kg) 5,0 mL. Os volumes sugeridos devem respeitar a condição clínica do paciente;
- 3) Para Nutrição Parenteral (NPP) seguir as orientações da farmacopéia ou legislação vigente para o volume e números de frascos mínimos a serem testados. Utilizar os frascos necessários para comportar os volumes requisitados mantendo a proporção de, no máximo, 10% em relação amostra e caldo;
- 4) Agitar o frasco até homogeneização por completo da amostra com o caldo.

2. Montagem do Sistema

- 1) O encaixe do laminocultivo deve ser realizado preferencialmente no laboratório, onde é possível trabalhar junto ao bico de Bunsen ou fluxo laminar, diminuindo o risco de contaminação;
- 2) Desrosquear a tampa do frasco sem tirá-la por completo;
- 3) Abrir o frasco do laminocultivo;
- 4) Retirar a tampa que já foi desrosqueada e encaixar o laminocultivo até o completo encaixe no frasco. Certifique-se que a tampa de rosca do laminocultivo esteja firmemente rosqueada.
- 5) Realizar a inversão do frasco para ocorrer a primeira sementeira nos meios sólidos: inverter o sistema gradualmente de maneira a fazer a sementeira das faces do laminocultivo e retornar a posição original lentamente, de forma que todo o meio líquido volte para a parte inferior do frasco;

3. Procedimento de Incubação

3.1. Semi-automatizado:

- 1) Incubar a 35,0°C ± 2,0°C, por 6 a 8 horas;
- 2) Após esta pré-incubação realizar nova inversão do sistema;
- 3) Retornar a posição original lentamente, de forma que todo o meio líquido volte para a parte inferior do frasco (não manter o sangue em contato com os meios sólidos). Incubar a 35,0°C ± 2,0°C;
- 4) Observar, no mínimo, 2 vezes ao dia o aparecimento de colônias e/ou mudança do indicador; caso não haja alteração, inverter o sistema novamente, banhando as faces do laminocultivo, retornar com o caldo para o frasco e reincubar a cada nova inversão até o penúltimo dia de incubação.

3.2 Automatizado:

- 1) Após 6 a 8 horas de incubação do frasco realizar uma inversão. Este frasco será novamente invertido automaticamente no horário programado pela Estufa para Hemobac Trifásico. Recomendamos programar a estufa para fazer a inversão a cada 4 horas para poder observar colônias na manhã do dia seguinte;
- 2) Fazer uma inversão diária após a leitura dos frascos e retirada das amostras positivas;
- 3) Sugerimos a observação dos frascos a cada 6 a 8 horas;
- 4) Nas rotinas sem o uso da Estufa para Hemobac Trifásico, tentar de acordo com o funcionamento do laboratório, realizar as inversões manualmente, conforme sugerido acima;
- 5) Não realizar mais que uma inversão ao dia não invalida a cultura, porém o aumento das inversões conforme mencionado facilita o crescimento bacteriano;
- 6) Para que o exame seja considerado automatizado é necessário o uso da Estufa para Hemobac Trifásico (estufa com temperatura controlada, agitação intermitente e inversão programada), que possui distribuição separada do produto;
- 7) A agitação favorece a rapidez e maior positividade.



4. Tempo de Incubação

4.1. Incubar por:

- 1) 5 dias para hemoculturas de rotina, cultura de líquidos nobres e NPP, nos casos de suspeita de bacteremia;
- 2) 7 dias para controle de hemocomponentes, células tronco (Stem Cells);
- 3) 14 dias para teste de Esterilidade da NPP.

5. Procedimentos Especiais

5.1. Controle de Esterilidade da NPP:

Utilizar os números de frascos dobrados para a mesma amostra: um para incubação a 35,0°C ± 2,0°C e outro entre 20° e 25°C. Para ambos a incubação deve ser, por pelo menos, 14 dias.

5.2 Pesquisa de Anaeróbios:

- Na hemocultura para pesquisa de **bactérias anaeróbias** os frascos devem ser incubados em estufa entre 35,0° e 37,0°C, por até 5 dias, realizando-se a inversão diária, se o exame for realizado de forma manual. Não desrosquear mais, exceto em caso de positividade.
- Observar o crescimento bacteriano e viragem do indicador. Se houver crescimento, o repique do crescimento em aerobiose e novamente em anaerobiose é necessário para assegurar que o microrganismo isolado é um anaeróbio estrito e descartar o isolamento de um aeróbio facultativo.

6. Leitura:

Ausência de crescimento ou de alteração da cor do indicador após o período de incubação proposto: reportar como negativo após o período de leitura descrito acima.

Presença de crescimento bacteriano nos meios sólidos: abrir o pote superior, desrosqueando a tampa com a lâmina, e proceder à identificação das colônias presentes, trabalhando de forma a assegurar a esterilidade do procedimento. Recomendamos que a coloração de Gram seja realizada, pois raras culturas destas amostras podem ser polimicrobianas.

Observar crescimento confluyente: às vezes o crescimento em meio sólido pode passar despercebido porque as bactérias formam um "tapete" (película) sem colônias isoladas. Recomendamos na dúvida colher amostra da superfície com alça de platina e fazer coloração de Gram.

Mudança da cor do indicador durante o período de incubação: a presença da coloração rosa forte ou vermelho denota a multiplicação do microrganismo, indicando sua presença na amostra. Desconsiderar as mudanças de cor acastanhadas ou levemente rosa, pois não indicam ação do CO₂. Se houver mudança na cor do indicador, sem a formação de colônias nos meios sólidos, aspirar com seringa o meio líquido através da tampa de borracha, fazer Gram do aspirado, pois algumas bactérias metabolicamente deficientes podem crescer em meios líquidos e não em meios sólidos, neste caso deve-se então semear em meios suplementados (com vitaminas).

7. Observações:

- 1) A visualização do crescimento pode ser dificultada pela formação de água de condensação na parede do laminocultivo. Recomendamos a leve inclinação do frasco, de forma que o próprio meio líquido lave as paredes, sem entrar em contato com o laminocultivo.
- 2) Após a sementeira dos frascos, quando a hemocultura é positiva, o tempo de viragem da cor do indicador é variável. Esta velocidade depende do número de bactérias presentes no inóculo, da espécie bacteriana presente, e da viabilidade dos microrganismos. A maioria das espécies provoca viragem da cor entre 8 a 24 horas. Leveduras podem demorar 48 horas ou mais.
- 3) Algumas espécies bacterianas, especialmente bactérias fastidiosas e não fermentadoras ou oxidativas podem produzir CO₂ em quantidades não detectáveis. Neste caso poderá ser observado o aparecimento de colônias sem a mudança de cor do indicador.
- 6) Embora as substâncias neutralizadoras de antimicrobianos sejam altamente efetivas, sempre é recomendado coletar as amostras de

hemoculturas longe do pico do antimicrobiano administrado ao paciente (imediatamente antes da próxima dose da droga).

8. Cuidados

Não utilizar frascos nos quais o meio de cultura esteja turvo.

Não utilizar laminocultivos com colônias microbianas ou com o indicador de cor rosa forte ou vermelha.

Não utilizar o produto na presença de outros sinais de contaminação. Algumas substâncias do caldo podem apresentar precipitação de seus componentes. Tal alteração não compromete o desempenho nem a esterilidade do produto. Estas precipitações podem variar de cor branca a preta.

A coloração inicial do indicador pode variar de creme a ligeiramente acastanhado.

A coloração inicial do caldo pode variar de amarelo claro a âmbar.

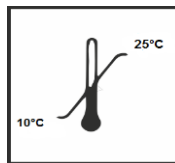
9. Limitações do Procedimento

O Caldo pode conter células mortas (inviáveis) derivadas de matérias-primas do próprio meio de cultura, por isso não é recomendável realizar teste de Gram partindo do inóculo do Caldo.

Recomendamos que o teste de Gram deverá ser realizado a partir de colônias que apresentarem crescimento no laminocultivo.

Não é recomendada a utilização do caldo sem o laminocultivo, o produto é eficaz e seguro quando utilizado em conjunto com o laminocultivo.

Conservação



Manter entre 10,0°C e 25,0°C.

Validade



6 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.

Referências Bibliográficas

1. Koneman, E. W.; Allen, S. D. et al : Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th Edition. J. B. Linnpott Company, Philadelphia, 2006.
2. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, Bailey and scott's - Diagnostic Microbiology.-11 Ed. Mosby, St Louis, 2002.
3. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC – Manual of Clinical Microbiologybiology.-9th Ed. ASM Press, Washington, DC, 2007.
4. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobouti NR, Sinto SI - Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica. Ed. Sarvier, São Paulo, 2004.
5. Runyon, Bruce A., *Management of adult patients with ascites due to cirrhosis*, Hepatology (39):1-16, 2004.
6. Cumitech- Blood Cultures IV. Editor Baron, EJ. Ed.ASM Press, Washington, DC, 2005.
7. Estudo Comparativo dos Sistemas BacT/Alert e Hemobac Trifásico para realização de hemoculturas. Edgar Garcez Junior, Álvaro Rodrigues Martins. Revista do Biomédico. Julho/Agosto, 2003. Ano 10. Nº 54.

SOMENTE PARA USO "IN VITRO" Rev.: 10



PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.
Rua Jaguaribe, 35 – Santa Cecília - São Paulo – SP
CEP: 01224-001 Fone: 55 11 3367-4777
CNPJ 45.597.176/0001-00 - Insc. Est. 110.485.842.111
Responsável Técnico: Francisco Donizeti Montagnoli CRF/SP: 47.534
Site: www.probac.com.br email: probac@probac.com.br

8. Estudo Comparativo dos Sistemas BacT/Alert e Hemobac Trifásico para realização de hemoculturas. Edgar Garcez Junior, Álvaro Rodrigues Martins. Apresentação: 37º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, Rio de Janeiro - RJ, Brasil, 2003.
9. Experiência com Hemobac Trifásico em hospital de Onco-hematologia. Levy CE; Mimica L; Mimica I; I. Centro Infantil Boldrini, Campinas - Apresentação: 37º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, Rio de Janeiro - RJ, Brasil, 2003.
10. Avaliação do Sistema Hemobac Trifásico® no controle de qualidade microbiológico de bolsas de sangue e hemocomponentes. GAO Barna, LMJ Mimica, CR Kamura, RKF Guillaume, CB Silva, SP Bydlowski, DAF Chamone. Apresentação: Congresso de Hemoterapia/2004, São Paulo – SP, Brasil, 2004.
11. Barna GA, Mimica LM, Dorlhiac-Llacer PE, Chamone DA, Evaluation of a culture system for the detection of microbial contamination of red cell and platelet concentrates. Scientific Section. Transfusion 45 (s3), 57A, 2005.
12. Barna GA, Mimica LM, Sierra PC, Silva CB, Dorlhiac-Llacer PE, Chamone DA, Evaluation of two methods for detection of microbial contamination in platelet concentrates. Scientific Section. Transfusion 45 (s3), 57A, 2005.
13. Berezin EN, Iazzetti MA, Evaluation of the Incidence of Occult Bacteremia Among Children With Fever of Unknown Origin. BJID 2006; 10 (December)
14. Wu DC, Mimica LM, Silva CB, Ueda SM, Hida RY. Antimicrobial *In Vitro* Evaluation of Corneal Storage Media using a Closed Chamber Study Model Curr Eye Res. 2009 Jun;34(6):421-5
15. Avaliação dos concentrados plaquetários produzidos pelo Hemovida de Bauru. K Bortolotti, RA Bento, RBC Colim, CMS
- Assato. Apresentação: Congresso de Hemoterapia/2010. Brasília – DF, Brasil, 2010.
16. Fernandes AP, Silva CJ, Costa C, Schreiber AZ, Mello FA, Teixeira-Loyola ABA, Incidência Bacteriana em Hemoculturas no Hospital das Clínicas Samuel Libânio de Pouso Alegre MG. REAS, Revista Eletrônica Acervo Saúde, 2011. Vol. 2, 122-133.
17. Ramos AS, Botteon RCCM, Antunes MS, Veiga CCP, Oliveira A, Bacteremia transitória em cães com doença periodontal em diferentes procedimentos odontológicos e usuais. Rev. Bras. Med. Vet., 33(2):79-84, abr/jun 2011.
18. Araujo, ME de, Hemocultura: recomendações de coleta, processamento e interpretação dos resultados. J Infect Control 2012; 1 (1): 08-19.

