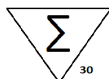


Indicações

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

Apresentação



Apresentação sem neutralizadores de antibióticos:

HATEF – Hemobac Trifásico Adulto III, 45 mL.
HPTEF – Hemobac Trifásico Pediátrico III, 30 mL.

Apresentação com neutralizadores de antibióticos:

HATIEF – Hemobac Trifásico Adulto III NA, 45 mL.
HPTIEF – Hemobac Trifásico Pediátrico III NA, 30 mL.

Caixa com 30 conjuntos.

Composição

Laminocultivo: Face larga; Agar Chocolate suplementado com vitaminas, 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), 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 promove o crescimento de microrganismos fastidiosos, devido à riqueza de nutrientes no meio. Possui substância 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 creme 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.

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>E. coli</i> ATCC 25922	Bom	1 UFC/mL
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Bom	
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	Bom	
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	Bom	

*500 mL de Inóculo 10² 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 à 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 à 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 na superfície do laminocultivo;
- 6) A agitação favorece a rapidez e maior positividade.



4. Tempo de Incubação

4.1. Incubar por:

- 1) Incube por 5 dias para hemoculturas de rotina, cultura de líquidos nobres e NPP, nos casos de suspeita de bacteremia;
- 2) Para controle de hemocomponentes, células tronco (Stem Cells) utilizar procedimentos adotados por sua instituição;
- 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.

6. Leitura:

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

Presença de crescimento bacteriano nos meios sólidos: abrir o frasco, desrosqueando a tampa com a lâmina e proceder com a 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 do sítio de injeção da tampa e realizar 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) 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 coloração 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 o produto quando for detectado que o meio de cultura esteja turvo, se o laminocultivo apresenta crescimento de colônias, ou o indicador apresenta coloração avermelhada.

Algumas substâncias do caldo podem apresentar precipitação de seus componentes. Tal alteração não compromete o desempenho nem a esterilidade do produto. A coloração inicial do indicador pode variar de creme a ligeiramente acastanhado.

A coloração do caldo pode variar de amarelo claro a âmbar, de acordo com o fabricante da matéria-prima.

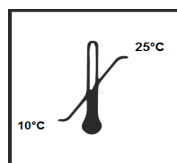
9. Limitações do Procedimento

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°C e 25°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. Lippincott 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 RC - 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.
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.

