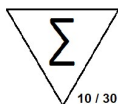


Indicações

Conjunto contendo Caldo e Laminocultivo, indicado para pesquisa de microrganismos anaeróbicos, em amostras de Sangue, Hemoderivados, amostras clínicas e não clínicas.

Apresentação

REF

**HATNF(10), HATENF(30)
HPTNF(10), HPTENF(30)
HATINF(10), HATIENF(30)
HPTINF(10), HPTIENF(30)**



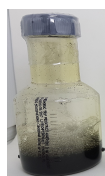
HATNF e HATENF – Hemobac Trifásico Adulto Anaeróbio I. Caixa com 10 Frascos, contendo 45 mL de Caldo e 10 Laminocultivos ou Caixa com 30 Frascos, contendo 45 mL de caldo e 30 Laminocultivos.



HPTNF e HPTENF – Hemobac Trifásico Pediátrico Anaeróbio I. Caixa com 10 Frascos, contendo 30 mL de Caldo e 10 Laminocultivos ou Caixa com 30 Frascos, contendo 30 mL de caldo e 30 Laminocultivos.

Apresentação com Neutralizadores de Antibióticos (NA):

HATINF e HATIENF – Hemobac Trifásico Adulto Anaeróbio I NA. Caixa com 10 Frascos, contendo 45 mL de Caldo e 10 Laminocultivos ou Caixa com 30 Frascos, contendo 45 mL de Caldo e 30 Laminocultivos.



HPTINF e HPTIENF – Hemobac Trifásico Pediátrico Anaeróbio I NA. Caixa com 10 Frascos, contendo 30 mL de Caldo e 10 Laminocultivos ou Caixa com 30 Frascos, contendo 30 mL de Caldo e 30 Laminocultivos.



Laminocultivo contendo 3 meios de cultura: Agar Chocolate na Face Larga, Agar MacConkey na face dividida esquerda e Agar Sabouraud na face dividida direita.

Composição

Caldo Hemobac Trifásico Adulto/Pediátrico Anaeróbio I: Caldo TSB, Anticoagulante, Substância redutora de Oxigênio, Fatores de crescimento microbiano e Água Purificada.

Caldo Hemobac Trifásico Adulto/Pediátrico Anaeróbio I NA: Caldo TSB, Anticoagulante, Substância redutora de Oxigênio, Neutralizadores de Antibióticos (NA), Fatores de crescimento microbiano e Água Purificada.

Lâmina Hemobac Trifásico Adulto/Pediátrico Anaeróbio I, com ou sem NA: Agar Chocolate, Agar MacConkey, Agar Sabouraud e Água Purificada.

Princípio

O Hemobac Trifásico Anaeróbio I é um produto desenvolvido para pesquisa de microrganismos anaeróbicos em amostras de Sangue e seus componentes, como Stem Cells (células tronco), líquidos corpóreos, Nutrição Parenteral (inclusive em casos de suspeita de bacteremia) e/ou outras amostras de origem clínica e não clínica.

O sistema é composto por um Laminocultivo, acoplado ao indicador de Gás Carbônico (CO₂) na tampa, contendo 3 meios de cultura diferentes (Agar Chocolate, Agar MacConkey e Agar Sabouraud) e um frasco com Caldo.

O Laminocultivo permite o crescimento presuntivo de microrganismos específicos no Agar MacConkey, microrganismos exigentes no Agar Chocolate e Bolores e Leveduras no Agar Sabouraud.

A formulação do caldo possui em sua composição, fatores de crescimento microbiano. Que propõe uma maior disposição de nutrientes e promove a recuperação de microrganismos que possam ter passado por estresse através de processos químicos. Possui substância anticoagulante, que impede a formação de coágulos durante a inoculação e incubação de amostras de sangue e substância redutora de Oxigênio, que permite o crescimento somente de microrganismos anaeróbicos. Caldos com apresentação NA, possuem Neutralizadores de Antibióticos (NA) em sua composição e são indicados para amostras de sangue na qual o paciente está sendo submetido a antibioticoterapia. Os neutralizadores de antibióticos são substâncias que adsorvem os antibióticos da amostra, diminuindo o risco de resultados falso negativo.

O Indicador de CO₂ acoplado a tampa do laminocultivo, detecta a presença de Gás Carbônico, formado no interior do frasco durante o período de incubação. O Gás Carbônico é um subproduto do metabolismo microbiano, que pode indicar a presença de crescimento microbiano no laminocultivo ou no caldo.

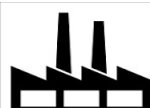
O conjunto (Laminocultivo e Caldo) são comercializados desconectado, essa versatilidade permite que a coleta de amostra de sangue, seja realizada diretamente no leito, apenas com o caldo, sem precisar deslocar o paciente. A conexão do laminocultivo pode ser realizada no momento da chegada do frasco ao laboratório independente do tempo decorrido da coleta. A conexão deve ser realizada antes da incubação do sistema.

Controle de Qualidade

Todos os lotes são submetidos a ensaios de desempenho e esterilidade. Nos ensaios de desempenho são utilizadas cepas com padrão ATCC e recomendado conforme descrito no manual do fabricante de meio de cultura. Para os ensaios de desempenho do produto são testados os microrganismos de acordo com a tabela abaixo.

Cepa	Sensibilidade	Recuperação	Esterilidade
<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	Detecção do inóculo com 1 a 10 UFC/mL	Bom, acima de 80%	Estéril após 72 h de incubação, a 35°C ± 2°C.
<i>C. perfringens</i> ATCC 13124			
Inóculo 500 µL do Inóculo de 10 ² UFC/mL			

Todos os documentos pertinentes a este produto como Certificado de Qualidade, FISPQ e Manual de Instrução estão disponíveis para download no site: www.probac.com.br



Procedimento

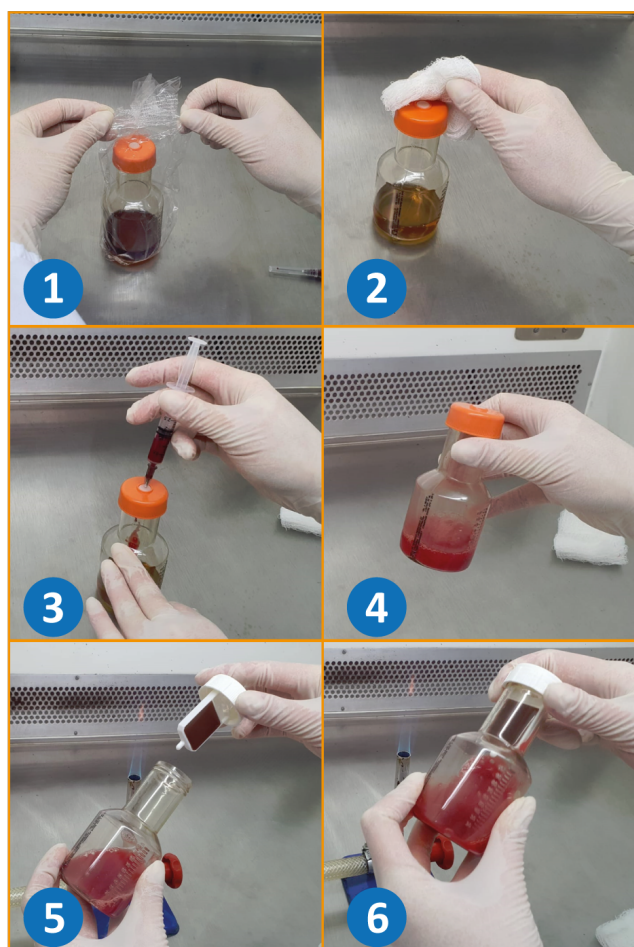
O procedimento a seguir é uma sugestão de uso, é recomendável que cada usuário valide o método de acordo com o compêndio oficial utilizado no laboratório.

Coleta da amostra

Após a realização da coleta de sangue do paciente:

Volume de amostra por frasco	
Hemobac Trifásico Anaeróbio I Adulto	10,0 mL de amostra para pacientes adultos, acima de 13 Kg ou volumes entre 5,0 mL e 10,0 mL
Hemobac Trifásico Anaeróbio I Adulto NA	
Hemobac Trifásico Pediátrico Anaeróbio I	0,5 a 2,0 mL para recém-nascidos até 2,0 Kg. Crianças entre 2,0 e 12,9 Kg) 5,0 mL
Hemobac Trifásico Pediátrico Anaeróbio I NA	
Os volumes sugeridos devem respeitar a condição clínica do paciente. 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.	

A inoculação da amostra deverá seguir conforme foto ilustrativa abaixo:



- 1) Abra a embalagem protetora do frasco;
- 2) Realize a anti-sepsia do sítio de injeção, localizado na tampa do frasco, com Solução de Álcool 70% ou Degermante disponível no laboratório;
- 3) Introduza a agulha no sítio de injeção, empurre o embolo da seringa lentamente;
- 4) Homogeneíze a amostra de sangue realizando movimentos circulares;
- 5) Próximo a um campo estéril ou Fluxo Laminar, abrir o Laminocultivo e o Frasco com a amostra homogeneizada;
- 6) Acople o Laminocultivo no frasco e realize a imersão de toda a amostra sobre o Laminocultivo, virando o frasco.
- 7) Incube a amostra a 35°C ± 2°C.

Incubação com inversão manual do frasco

- 1) O primeiro contato da amostra com os meios de cultura do laminocultivo é realizado no momento da homogeneização, após esse procedimento, incube a 35°C ± 2°C, de 6 a 8 horas;
- 2) Após o primeiro período de incubação, realize novamente a imersão da amostra e retorne o frasco para a estufa;
- 3) Observar após 12h de incubação, o aparecimento de colônias na superfície do laminocultivo e/ou mudança de coloração do indicador de CO₂ (de âmbar para rosa);
- 4) Caso não seja observado crescimento ou alteração de coloração do indicador de CO₂, realize a imersão do laminocultivo e retorne para estufa.
- 5) Repita a imersão do laminocultivo até o final do período de incubação de 5 dias;
- 6) Caso não seja evidenciado a presença de formação de colônias na superfície do laminocultivo ou alteração da coloração do indicador de CO₂, indica que não há presença de microrganismo na amostra.

Incubação com inversão automatizada do frasco

- 1) Para realização desse método é necessário adquirir a Estufa incubadora Hemobac Trifásico, marca registrada Probac do Brasil®.
- 2) Insira o frasco no encaixe da bandeja da estufa e gire até verificar que o frasco está fixo;
- 3) No painel da estufa, ajuste o relógio, a temperatura e o intervalo de agitação. A inversão do frasco já vem programada para ser realizada a cada 12 horas;
- 4) Sugerimos a observação dos frascos a cada 6 a 8 horas;
- 5) A inversão favorece o crescimento de colônias na superfície do meio de cultura.
- 6) Caso não seja evidenciado a presença de formação de colônias na superfície do laminocultivo ou alteração da coloração do indicador de CO₂, indica que não há presença de microrganismo na amostra.

Interpretação dos Resultados

Ausência de crescimento na superfície do laminocultivo, sem alteração da coloração do indicador de CO₂ (de âmbar para rosa), após o período de incubação proposto, indica ausência de microrganismos na amostra.



Alteração de coloração do indicador de CO₂ (cor rosa a fúcsia), durante o período de incubação, indica a multiplicação do microrganismo na amostra.

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.

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).

Observações

Quando a amostra é positiva, o tempo de viragem do indicador de CO₂ pode variar. Esta variação 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.

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.

Embora as substâncias neutralizadoras de antimicrobianos sejam altamente efetivas, é recomendado coletar as amostras de hemoculturas longe do ápice de concentração do antimicrobiano administrado ao paciente. Sugere-se coletar antes da próxima dose da droga.

Precauções

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

Produto com registro na ANVISA nº 10104030065, podendo ser utilizado para diagnóstico clínico de acordo com a RDC nº 36 de 26 de Agosto de 2015.

O produto é destinado para profissionais da área da saúde, com sólidos conhecimentos em Microbiologia.

Não utilizar o produto se a embalagem estiver violada, avariada ou se o meio apresentar contaminação.

Não utilizar o produto se for detectado que o meio de cultura esteja turvo, se o laminocultivo apresenta crescimento de colônias ou se 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, nas apresentações sem neutralizados de Antibióticos (NA). Nas apresentações com NA, a coloração do Caldo é preta.

Limitações do Produto

O Caldo pode conter células mortas (inviáveis), derivadas de matérias-primas ou próprio meio de cultura desidratado, por isso, não é recomendável realizar coloração 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.

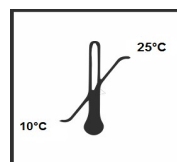
Não é recomendada a utilização do caldo sem o laminocultivo, o produto é eficaz e seguro quando utilizado em conjunto com o laminocultivo.

De acordo com o estudo de estabilidade do produto em transporte, o produto pode ser transportado em temperatura ambiente e acondicionado sob refrigeração. Desde que não ultrapasse 35°C por mais de 5 dias.

O laminocultivo é um produto frágil, evite agitação constante e forte durante a homogeneização da amostra com o laminocultivo submerso, não prolongue a imersão do laminocultivo no caldo por mais de cinco minutos. Movimentos acentuados ou queda durante o transporte do laminocultivo pode ocasionar em desprendimento do meio de cultura da lâmina, inviabilizando o produto. Para transporte, seguir as recomendações e dizeres de simbologia da embalagem.

Este produto não deve ser utilizado para pesquisa de microrganismos aeróbicos.

Conservação

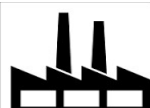


Manter entre 10°C e 25°C.

Validade



6 meses a partir da data de fabricação.



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 FC - Manual of Clinical Microbiology. 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.

