

## Indicações

POLICIMBAC é um sistema de microdiluição em caldo, indicado para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) de Bacilos Gram negativos à polimixina B.

## Apresentação



PCIMP



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

## Apresentação do Painel

A	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	CC	○
B	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	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 com capacidade para realização de 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 aos 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<sup>(1)</sup>. 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 caldo, em concentrações que variam de 0,125 µg/mL a 64 µg/mL<sup>(2)</sup>.

## 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 (mg/L)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,25 – 1
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0,5 – 2,0
<i>E. coli</i> resistente a Polimixina B (MCR 1) LI 449/16	> 4

\* Limite aceitável de acordo com CLSI ou BRCAS-EUCAS vigente em mg/L.

Todos os documentos pertinentes a este produto como Certificado de Análise, FISPQ e Bula estão disponíveis no site [www.probac.com.br](http://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  $10^8$  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  $10^6$  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  $10^5$  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  $35,0^{\circ}\text{C} \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ .
- 12) Após o período de incubação, realize a leitura observando a turvação do meio em cada cavidade.

### Interpretação dos Resultados:

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) será a primeira concentração (cavidade) onde não houver turvação no meio (ver exemplo 1). O resultado deve ser liberado em mg/L.

Para visualização da turvação do meio, adicione 1 gota de solução reveladora em cada cavidade e incube de 20 a 60 minutos. Após este período, a cavidade onde houver crescimento microbiano apresentará coloração avermelhada.



↪ CIM: 1 mg/L

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

Exemplo 1: Microplaca com o inóculo de *Escherichia coli* ATCC 25922. A leitura da CIM é considerada a partir da primeira cavidade onde não houver turvação do meio, neste caso, a CIM é 1 mg/L.

São considerados microrganismos resistentes a polimixina B, os que apresentam a CIM maior que 2 mg/L. Ver exemplo 2:

↪ CIM: 2 mg/L

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

Exemplo 2: A CIM neste caso é de 2 mg/L.

Após o período de incubação, se houver crescimento apenas na cavidade de controle de crescimento (CC), e ausência nas cavidades com concentrações de polimixina B, indica que a CIM é igual ou inferior a 0,125 mg/L.

CIM = ou < 0,125 mg/L ↩

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

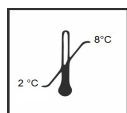
1) Para microrganismos do gênero *Acinetobacter spp.*, o período de incubação após a adição de solução reveladora deve ser de 1 hora em estufa aeróbica a 35,0°C ± 2,0°C, para melhor visualização.

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) Um controle interno está incluído no teste, o controle de crescimento (CC). Se o mesmo não apresentar turvação do meio após o período de incubação, indica que o microrganismo não está viável para o teste.

4) A presença de pequenos pontos de precipitação na cavidade sem alteração de cor após a adição da Solução Reveladora não deve ser considerada, pois pode ser decorrente da matéria-prima.

**Conservação**



Conservar entre 2°C 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 registro na ANVISA nº 10104030073, 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 ou avariada.

**Limitações do Produto**

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 3 dias.

O produto é embalado a vácuo para garantir a preservação e propriedades de desempenho. No momento da utilização, caso a embalagem apresente a perda do vácuo, recomendamos não utilizar o produto.

**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. Disponível em: [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid).

2 - Controle interno de qualidade de rotina e estendido para a determinação da CIM e Disco-Difusão conforme recomendações do BrCAST-EUCAST. Versão 11.0 do EUCAST de 01/01/21. Versão para o português válida a partir de 20/03/21. Disponível em: <https://brcast.org.br>

3 - ANVISA: Comunicado de risco N°01/2016-GVIMS /GGTES /ANVISA - Detecção do gene responsável pela resistência à polimixina mediada por plasmídeos (mcr-1) no Brasil. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/comunicados-de-risco-1/comunicado-de-risco-01-2016-gvims-ggtes-anvisa/view>

