



HEMOBAC TRIFÁSICO PEDIÁTRICO III, HEMOBAC TRIFÁSICO PEDIÁTRICO III NA, HEMOBAC TRIFÁSICO ADULTO III, HEMOBAC TRIFÁSICO ADULTO III NA, HEMOBAC TRIFÁSICO ADULTO ANAERÓBIO II, HEMOBAC TRIFÁSICO ADULTO ANAERÓBIO II NA, HEMOBAC TRIFÁSICO PEDIÁTRICO ANAERÓBIO II, HEMOBAC TRIFÁSICO PEDIÁTRICO ANAERÓBIO II NA

Indicações:

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 bacteriemia)**. O Sistema é composto por um laminocultivo com 2 faces acoplado à parte superior de um recipiente plástico contendo um caldo suplementado que na apresentação **NA** é acrescido de substâncias orgânicas e inorgânicas para neutralização de antimicrobianos. Os meios que compõem o laminocultivo detectam o crescimento de bactérias e fungos e são: - Face larga: Agar Chocolate; - Face dividida: Agar Sabouraud, Agar MacConkey. E na tampa o Indicador de CO₂ (de forma redonda).

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, adulto e pediátrico, visando manter a proporção sangue/caldo, de acordo com a quantidade possível de coleta. E ambas com ou sem neutralizador de antimicrobianos (NA)

Características dos Componentes:

Fase 1: - Caldo suplementado Trifásico (TSB ou BHI, Glicose, Piridoxina, L-Cisteína, Extrato de levedura, NaOH, SPS, Água Destilada) e Caldo suplementado Trifásico Anaeróbio (TSB ou BHI, Tioglicolato de Sódio, Glicose, Piridoxina, L-Cisteína, Extrato de levedura, NaOH, SPS, Água Destilada) : promove o crescimento de micro-organismos, devido à riqueza de nutrientes. O SPS possui efeito anticoagulante, favorece o cultivo devido à ação anticomplementar, antifagocitária e inibitória da atividade microbiana dos aminoglicosídeos e outras drogas que podem estar presentes no sangue.

- **Para apresentação NA:** substâncias orgânicas e inorgânicas que inibem os antibióticos, favorecendo o isolamento bacteriano durante a terapêutica com antimicrobianos. Os antimicrobianos inibidos são as penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, glicopeptídeos e aminoglicosídeos, desde que a amostra seja colhida no vale da curva farmacocinética do antimicrobiano, ou seja, imediatamente antes da próxima dose do mesmo.

Fase 2: - Meios de cultura sólidos que permitem o crescimento de micro-organismos (Agar Chocolate, Agar Sabouraud, Agar MacConkey) produtores de bacteriemia.

Fase 3: - Indicador: a viragem de cor para **rosa forte e vermelho** ocorre pela presença de CO₂ produzido pelo micro-organismo.

Procedimento:

1. Coleta

- Para inocular a amostra, no momento imediatamente antes da coleta, desinfetar a tampa de silicone com álcool a 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 2 minutos para o PVPI. O algodão, gaze ou sachê utilizado na assepsia da pele não deve ser o mesmo utilizado para a assepsia do frasco.

- 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.

- 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.

- Agitar levemente para haver homogeneização da amostra com o caldo.

2. Montagem do Sistema

- 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.

- Desrosquear a tampa do frasco sem tirá-la por completo.

- Abrir o frasco do laminocultivo.

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO" Rev.: 08

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.

Rua Jaguaribe, 35 – Sta.Cecília - São Paulo - SP.

CEP: 01224-001 - Fone: 55 11 3367-4777 - Fax: 55 11 3223-8368

C.N.P.J. 45.597.176/0001-00 - Insc. Est. 110.485.842.111

Site: www.probac.com.br E-mail: probac@probac.com.br

- 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.
- 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.
- Quando os frascos são colocados na estufa do Hemobac Trifásico posicione estes de modo que a face larga (Agar Chocolate) fique para frente, direcionada para a porta da estufa para facilitar a visualização e monitoramento do crescimento bacteriano.

3. Procedimento:

3.1 Semi-automatizado:

- Incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 4 a 6 horas.
- Após esta pré-incubação realizar nova inversão do sistema.
- 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 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- 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:

- Após 4 a 6 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 entre 20:00h e 24:00h para poder observar colônias na manhã do dia seguinte.
- Fazer uma inversão diária após a leitura dos frascos e retirada das amostras positivas.
- Sugerimos a observação dos frascos a cada 4 a 6 horas.
- 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.
- Não realizar mais que uma inversão ao dia não invalida a cultura, porém o aumento das inversões conforme mencionado facilita o crescimento bacteriano.
- 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.
- A agitação favorece a rapidez e maior positividade.

4. Tempo de Incubação

4.1 Incubar por:

- 5 dias as hemoculturas de rotina, cultura de líquidos nobres e NPP, nos casos de suspeita de bacteriemia.
- 4 a 6 semanas nos casos de bactérias de crescimento muito lento (p.ex, *Brucella* spp) manter incubado e inverter os frascos uma vez por semana.
- 7 dias para controle de hemocomponentes, células tronco (stem cells).
- 14 dias para teste de esterilidade da NPP produzida.

4.2 Pesquisa de Fungos:

- Se houver pesquisa ou suspeita clínica de fungos filamentosos incubar por mais 8 a 10 dias totalizando 15 dias, no mínimo, à temperatura ambiente. O período pode ser estendido até 30 dias. Nestes casos recomendamos o uso de um frasco separado para a cultura de fungos, com inversão no momento do acoplamento, em 24, 48 e 72 horas e depois no 5º e 8º dias.
- Nos controles microbiológicos após o período de incubação (5 ou 7 dias), estender a incubação até o 15º dia em temperatura ambiente, não necessitando de novas inversões nesse período.

5. Procedimentos Especiais

5.1 Hemoculturas Quantitativas:

- No caso de hemoculturas quantitativas, quando é colhido sangue periférico e do cateter, recomendamos enviá-las de imediato ao laboratório para a montagem do sistema e a inversão dos dois frascos, após 2 horas de incubação. Estes frascos não devem ser invertidos novamente no mesmo dia, se após 24 horas não houver crescimento bacteriano, inverter os frascos e seguir a rotina descrita acima para hemocultura e em caso de positividade, verificar **SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO" Rev.: 08**

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.

Rua Jaguaribe, 35 – Sta.Cecília - São Paulo - SP.

CEP: 01224-001 - Fone: 55 11 3367-4777 - Fax: 55 11 3223-8368

C.N.P.J. 45.597.176/0001-00 - Insc. Est. 110.485.842.111

Site: www.probac.com.br E-mail: probac@probac.com.br

a possibilidade de quantificação do crescimento. Esta conduta permite a contagem comparativa das colônias das duas amostras. Se no frasco inoculado com sangue obtido através do cateter, o número de colônias for superior a 5 vezes ao frasco do sangue periférico, indica uma infecção relacionada a este cateter. É importante semear uma quantidade igual de sangue em cada um dos frascos.

5.2 Controle de Esterilidade da NPP:

- Utilizar os números de frascos dobrados para a mesma amostra: um para incubação a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e outro entre 20° e 25°C . Para ambos a incubação deve ser, por pelo menos, 14 dias.

5.3 Pesquisa de Anaeróbios:

- Na hemocultura para pesquisa de **bactérias anaeróbias** os frascos devem ser incubados em estufa entre 35° e 37°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 micro-organismo 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 se polimicrobianas.

A presença do meio **Agar MacConkey** facilita a identificação bacteriana, pois indica o isolamento de um bacilo Gram negativo na amostra. A ausência de crescimento no MacConkey, geralmente indica crescimento de bactérias Gram positivas, porém alguns bacilos Gram negativos não fermentadores da glicose e outras bactérias fastidiosas podem não crescer neste meio.

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 micro-organismo, indicando sua presença na amostra. **Desconsiderar as mudanças de cor acastanhadas ou levemente rosa, pois não indicam ação do CO_2 .** 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 micro-organismos. A maioria das espécies provoca viragem da cor entre 8 a 24 horas. Leveduras podem demorar 48 horas ou mais.

3. Bactérias não exigentes podem crescer também no Agar Sabouraud.

4. A *Candida* spp cresce no meio de Sabouraud e no Agar Chocolate.

5. Algumas espécies bacterianas, especialmente bactérias fastidiosas e não fermentadoras ou oxidativas podem produzir CO_2 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.

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO" Rev.: 08

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.

Rua Jaguaribe, 35 – Sta. Cecília - São Paulo - SP.

CEP: 01224-001 - Fone: 55 11 3367-4777 - Fax: 55 11 3223-8368

C.N.P.J. 45.597.176/0001-00 - Insc. Est. 110.485.842.111

Site: www.probac.com.br E-mail: probac@probac.com.br



- 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.
- O caldo dos frascos de Hemobac Trifásico NA (neutralizadores de antimicrobianos) é de cor preta.
- A coloração inicial do indicador pode variar de creme a ligeiramente acastanhado.

Precauções: Após o uso, o produto deverá ser descartado conforme as recomendações vigentes para resíduos de serviços de saúde.

Apresentação:

Pediátrico, Pediátrico NA, Pediátrico Anaeróbio e Pediátrico Anaeróbio NA: Caixa com 10 ou 30 frascos (30 mL de meio líquido) e a mesma quantidade de laminocultivos.

Adulto, Adulto NA, Adulto Anaeróbio e Adulto Anaeróbio NA: Caixa com 10 ou 30 frascos (45 mL de meio líquido) e a mesma quantidade de laminocultivos.

Conservação: Conservar entre 10° e 25°C (não refrigerar). **Validade:** 6 meses

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 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.

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO "IN VITRO" Rev.: 08

PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.

Rua Jaguaribe, 35 – Sta. Cecília - São Paulo - SP.

CEP: 01224-001 - Fone: 55 11 3367-4777 - Fax: 55 11 3223-8368

C.N.P.J. 45.597.176/0001-00 - Insc. Est. 110.485.842.111

Site: www.probac.com.br E-mail: probac@probac.com.br