

**HEMOBAC TRIFÁSICO PEDIÁTRICO III, HEMOBAC TRIFÁSICO PEDIÁTRICO III NA, HEMOBAC TRIFÁSICO ADULTO III, HEMOBAC TRIFÁSICO ADULTO III NA, HEMOBAC TRIFÁSICO ADULTO ANAERÓBIO I, HEMOBAC TRIFÁSICO ADULTO ANAERÓBIO I NA, HEMOBAC TRIFÁSICO PEDIÁTRICO ANAERÓBIO I, HEMOBAC TRIFÁSICO PEDIÁTRICO ANAERÓBIO I 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 CO<sub>2</sub> (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 (TSB ou BHI, 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 CO<sub>2</sub> produzido pelo micro-organismo.

**Procedimento:**

**1. Coleta**

- Para inocular a amostra, abrir o envelope plástico (que protege o frasco e garante sua esterilidade), somente no momento da inoculação. Inocular a amostra através da tampa de silicone da base do frasco.

- Se o envelope for aberto e a amostra não for inoculada imediatamente, antes da inoculação 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.: 06

- 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°C ± 2°C, por 2 a 4 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°C ± 2°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 2 a 4 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.: 06



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°C ± 2°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, sem agitação e realizando-se a inversão diária 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 confluinte:** 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<sub>2</sub>.** 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<sub>2</sub> 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.: 06

**PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.**

Rua Jaguaripe, 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](http://www.probac.com.br) E-mail: [probac@probac.com.br](mailto: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. Lincott 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, Tenenbaum RH – Manual of Clinical Microbiologybiology.-9th Ed. ASM Press, Washington, DC, 2007.
4. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tabouti 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, E.J. 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, Dorliac-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, Dorliac-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.: 06

**PROBAC DO BRASIL Produtos Bacteriológicos Ltda.**

Rua Jaguaripe, 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](http://www.probac.com.br) E-mail: [probac@probac.com.br](mailto:probac@probac.com.br)