DISCOS PARA ANTIFUNGIGRAMA

CARTUCHO DE 50 DISCOS

ESTUDO DE SENSIBILIDADE DOS FUNGOS AOS ANTIFÚNGICOS

IVD

1- INTERESSE CLÍNICO

Estes discos permitem determinar a sensibilidade das leveduras (*Candida*, *Cryptococcus*,…) e dos fungos filamentosos com esporos (*Aspergillus*) aos agentes antifúngicos, segundo um método de difusão em meio de ágar.

2- PRINCÍPIO

Discos de papel impregnados com uma concentração determinada de antifúngico são depositados à superfície do meio semisynthetic (5-Fluorocitosina) ou casitone (Anfotericina B, Nistatina, Econazol, Clotrimazol, Miconazol, Cetoconazol), previamente inoculado por meio de um inoculado calibrado, preparado a partir de uma cultura pura do fungo a testar. Estabelece-se um gradiente de concentração antifúngica em volta dos discos no ágar. Após incubação, o diâmetro das zonas de inibição observadas em volta dos discos permite deduzir as Concentrações Mínimas Inibitórias (CMI) dos diferentes antifúngicos relativamente à cepa testada, bem como a categorização clínica (Sensível, Intermédio, Resistente).

3- APRESENTAÇÃO

Os discos, fabricados a partir de papel absorvente de qualidade superior, têm um diâmetro de 6,5 mm e estão impregnados de antifúngicos a concentrações precisas.
Estes discos estão claramente identificados por um símbolo composto por 2 a 3 letras, impresso de cada lado do disco (quadro 1).
Os discos Bio-Rad são apresentados em cartucho de 50 discos acondicionados em embalagens estanques contendo um desidratante.

	CAPACIDADE DO DISCO	SÍMBOLO	ACONDICIONAMENTO	REFERÊNCIA
5-Fluorocitosina	1µg	5FC 1	1 x 50 discos	62846
Anfotericina B	100 µg	AB 100	1 x 50 discos	62806
Nistatina	100 IU	NY 100	1 x 50 discos	62856
Econazol	50 µg	EC 50	1 x 50 discos	62826
Clotrimazol	50 µg	CTR 50	1 x 50 discos	62816
Miconazol	50 µg	MCZ 50	1 x 50 discos	62836
Cetoconazol	50 µg	KET 50	1 x 50 discos	62866

4- CONSERVAÇÃO

O prazo de validade aplica-se apenas aos discos contidos em cartuchos intactos, conservados segundo as instruções do fabricante. O prazo de validade e o número do lote estão indicados em cada embalagem (cartucho e embalagem exterior).

- Os cartuchos de discos devem ser conservados dentro da respectiva embalagem, entre + 2 e + 8 ° C, **em local seco**.
- Estabilizar os cartuchos à temperatura ambiente (18-30°C) antes de os abrir, e voltar a colocar os cartuchos não utilizados a uma temperatura entre + 2 e + 8 ° C , uma vez terminada a colocação dos discos.
- Não utilizar discos cujo prazo de validade tenha expirado.
- Se os cartuchos forem conservados no distribuidor após a colocação, este deverá ser conservado a + 2-8°C, em local seco, **equipado com dessecantes.**
- A estabilidade dos discos em cartuchos abertos colocados nos distribuidores foi validada em condições de rotina durante 6 semanas.

5- MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- distribuidor de discos: 6 discos ref. nº 50271
  8 discos ref. nº 50270
  12-16 discos ref. nº 50295
- meio de cultura (Casitone agar, referência 55813, meio Semi-Synthetic medium, referência 55812)
- água destilada esterilizada (tubos de 9 ml, referência 54154)
- ansa
- pipetas Pasteur
- ##cepas fúngicas para controle de qualidade
- material de laboratório necessário para a realização dos antifungigramas pelo método de difusão em meio de ágar

6- PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Cumprir sempre as técnicas e precauções em vigor em matéria de proteção contra riscos microbiológicos.
Após a utilização, esterilizar as culturas e todo o material contaminado.

7- MODO DE FUNCIONAMENTO

- Amostras: os discos não devem ser utilizados para a realização de testes diretamente em amostras biológicas.
- Consultar o folheto informativo que acompanha os meios Casitone agar (referência 55813) ou Semi-Synthetic medium (referência 55812) para a preparação do inoculado a partir de uma cultura pura e fresca, o modo de inoculação, a temperatura e o prazo de incubação.
- Recomenda-se a aplicação constante das boas práticas de laboratório.

8- INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- Medir com precisão os diâmetros das zonas de inibição observadas.
- A correspondência de diâmetros, Concentração Mínima Inibitória (C.M.I.) e categorização clínica (Sensível, Intermédio, Resistente) está resumida no quadro seguinte:

	Diâmetro da zona de inibição em mm	**CMI em µg / ml**	**Interpretação para as leveduras (a – b)**
5-Fluorocitosina* (1 µg)	= 20 20 – 10 = 10	= 1.56 1.56 – 25 = 25	Sensível Intermédio Resistente
Anfotericina B	< 10 = 10	< 1 = 1	Sensível Intermédio ou Resistente
Nistatina	> 10 = 10		Sensível Resistente
Imidazoles ** (Econazol, Clotrimazol, Miconazol, Cetoconazol)	= 20 20 – 10 = 10	= 1.56 1.56 – 6.4 = 6.4	Sensível Intermédio Resistente
5-Fluorocitosina (1 µg)	> 10 = 10		**para *A. fumigatus*** Sensível Intermédio ou Resistente

Para as cepas consideradas resistentes (diâmetro da zona de inibição inferior a 10 mm), aconselha-se a realização de uma determinação da C.M.I. ou remeter as estirpes a um Laboratório de Referência em Micologia.

* Para a 5-fluorocitosina, a possível existência de pequenas colônias na zona de inibição corresponde a mutantes resistentes.
** Para os imidazoles, a avaliação torna-se por vezes difícil. Certas cepas apresentam duas zonas de inibição:

- uma grande zona
- uma zona mais reduzida, com pequenas colônias que deixam de aparecer como resistentes quando se procede a nova avaliação da sua sensibilidade: o crescimento destas pequenas colônias observa-se igualmente na determinação das C.M.I.

a- Resultados obtidos com *Candida albicans* e outros fungos leveduriformes (1), (3)
b- A categorização Sensível, Intermédio ou Resistente é fornecida após comparação das C.M.I. e das concentrações séricas em antifúngico obtidas com as posologias habituais por via oral ou entravenosa (2) .

O antifungigrama dos fungos filamentosos com esporos (como o *Aspergillus fumigatus*) pode ser realizado em condições semelhantes às dos fungos leveduriformes (inoculado = 10_6 esporos/ml).

9- DESEMPENHOS / CONTROLE DE QUALIDADE DO TESTE

O quadro seguinte apresenta, em resumo, os limites aceitáveis dos diâmetros de inibição obtidos por difusão em meio de ágar para as cepas de referência abaixo indicadas:

	disco	**Capacidade do Limites aceitáveis dos diâmetros de inibição (mm)**	
		Candida albicans DP 3153A	*Candida albicans* DP 41R5FC
5-Fluorocitosina	1 µg	30 - 38	resistente
Nistatina	100 IU	16 - 25	17 - 26
Econazol	50 µg	23 - 33	25 - 35
Clotrimazol	50 µg	18 - 28	18 - 30
Miconazol	50 µg	18 - 25	20 - 30
Cetoconazol	50 µg	25 - 36	29 - 39
		Candida albicans ATCC 24433	*Candida albicans* ATCC 90028
Anfotericina B	100 µg	15 - 21	15 - 21

10- CONTROLE DA QUALIDADE DE FABRICA¢ëO

Todos os reagentes são fabricados e preparados de acordo com o nosso Sistema de Qualidade, desde a recepção das matérias primas até à comercialização do produto final. Cada lote é submetido a um controle de qualidade, sendo comercializado apenas quando em total conformidade com os critérios de aceitação predefinidos. Os registos relacionados com a produção e controle de cada lote são arquivados pela Bio-Rad.

11- LIMITES DE UTILIZAÇÃO

Os desempenhos do teste dependem não só da atividade dos discos, mas igualmente de fatores tais como a utilização de um inoculado padronizado, de cepas de controle apropriadas, de meios de cultura adaptados pré-testados e de uma temperatura de armazenamento dos discos adequada.

12- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DROUHET E. et DUPONT B.. Bull. Soc. Fr. Mycol. Med. 1978, 2, 165-170 – Antibiogramme des chamipgnons aux antifongiques.
2. DROUHET E. et DUPONT B.. Encyclopédie médico-chirurgicale (Paris. 1976, 9. La. Infect. 8004 M10 : Traitements antifongiques.
3. DROUHET E. and al., Standardization of the antifungal sensitivity tests. Report of the Study Group of the French Society for Medical Mycology, Bull. Soc. Fr. Mycol. Med., 1981, 10, n°1, 131-134.
4. GRILLOT R., Les antifongiques. Présentation synoptique et tests in vitro, :Grillot R.(éd), Les mycoses humaines : démarche diagnostique, Elsevier, Paris, 1996, pp.323-353.

Produtos

62846 Discos de 5-Fluorocitosina 1 µg
62806 Discos de Anfotericina B 100 µg
62816 Discos de Clotrimazol 50 µg
62826 Discos de Econazol 50 µg
62866 Discos de Cetoconazol 50 µg
62836 Discos de Miconazol 50 µg
62856 Discos de Nistatina 100 UI

Sempre verifique se a versão da Instrução de Uso constante no rótulo externo do seu produto corresponde ao documento obtido no endereço eletrônico http://www.bio-rad.com/pt-br/clinical-diagnostics/support.

Para obter a Instrução de Uso em formato impresso, entre em contato com a Bio-Rad: brz_bulas@bio-rad.com.

Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33

Bio-Rad Laborat· rios Brasil Ltda
Rua Alfredo Albano da Costa - 100 - salas 1, 2 e 3
CEP: 33.400-000 - Lagoa Santa - MG - Brasil
CNPJ: 03.188.198/0001-77
Tel.: (31) 3689-6600

03/2009