

Monodiscos de EDTA

IVD

USO

Discos que permiten la detección fenotípica de enzimas metalo-beta-lactamasas (MBLs) mediante la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.

FUNDAMENTO

Las metalo-beta-lactamasas son enzimas que han sido aisladas y reportadas en numerosos países, incluida la Argentina y se han publicado diversos trabajos documentando su diseminación en el ámbito hospitalario, resaltando así la importancia epidemiológica de las mismas.

Pertenecen a la clase B de Ambler y al grupo 3 según la clasificación funcional de Bush-Jacoby-Medeiros. Los genes que las codifican pueden estar localizados a nivel cromosómico o plasmídico. Estas enzimas hidrolizan una gran variedad de antibióticos betalactámicos, incluyendo penicilinas, cefalosporinas (1^a, 2^a, 3^a y 4^a generación) y carbapenemes. No actúan, in vitro, sobre aztreonam.

Característicamente, las metalo-beta-lactamasas pueden ser inhibidas por agentes quelantes de Zinc como ser el EDTA y el mercaptoacetato de sodio.

El hecho de actuar sobre carbapenemes hace que su importancia clínica sea aún mayor, ya que estos antibióticos debido a su amplio espectro de acción y a su estabilidad frente a la acción de enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE), son utilizados como último recurso para el tratamiento de infecciones causadas por bacilos Gram negativos resistentes a otros antibióticos betalactámicos.

Toda esta situación, conduce a que la detección de enzimas metalo-beta-lactamasas sea determinante para dirigir el tratamiento óptimo de los pacientes y para controlar la diseminación de la resistencia. El uso de los discos de EDTA constituye un método fenotípico, rápido, práctico y simple, para poder detectarlas.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B1241727 envase x 50 discos.

Discos impregnados con EDTA (ácido etilendiamino tetraacético) 372 ug y Mercaptoacetato de sodio (SMA): 900 ug.

INSTRUCCIONES

Producto listo para usar.

ALMACENAMIENTO

Entre -20 y 0°C.

Alternativamente a 2-8 °C durante 7 días.

PROCEDIMIENTO

Se realiza la "Doble difusión de Discos".

Siembra

- Mediante la técnica de hisopado en superficie, inocular el microorganismo en estudio en una placa de Mueller Hinton Agar.
- Colocar 1 disco de Imipenem 10 µg y un disco de EDTA separados a una distancia aproximada de 15 mm de borde a borde.
- Colocar 1 disco de Meropenem 10 µg a una distancia de 15 mm del disco de EDTA de borde a borde entre ambos discos, contrapuesto al disco de Imipenem.

Incubación

En aerobiosis, a 35-37 °C durante 20-24 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observación del halo de inhibición del desarrollo microbiano:

Presencia de metalo-beta-lactamasas: agrandamiento o defor-

Monodiscos de EDTA

mación de la zona de inhibición del desarrollo alrededor del disco de Imipenem 10 µg y/o Meropenem 10 µg hacia el disco de EDTA. Este fenómeno de agrandamiento es conocido comúnmente como "Efecto Huevo".

Ausencia de metalo-beta-lactamasas: no se encuentran alteraciones ni deformaciones en la zona de inhibición del desarrollo alrededor de los discos de carbapenemes hacia el disco de EDTA.

CONTROL DE CALIDAD

Se utilizan como controles positivos cepas clínicas de Pseudomonas aeruginosa productoras de enzimas metalo-beta-lactamasas confirmadas por biología molecular y como controles negativos las cepas Escherichia coli ATCC 25922 y Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853.

MICROORGANISMOS	PRESENCIA DE METALO-BETA LACTAMASAS
Pseudomonas aeruginosa productoras de MBLs	Positivo
Escherichia coli ATCC 25922	Negativo
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Negativo

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

LIMITACIONES

- Utilizar el medio de cultivo Mueller Hinton Agar en placas, con valor de pH 7,2-7,4 y espesor 4 mm. Si el espesor es diferente de 4 mm se obtendrán halos mayores o menores según el caso.
- Trabajar con cultivo puro del microorganismo en estudio.
- Luego de aplicar los discos, ejercer ligera presión sobre los mismos para lograr el buen contacto con el agar. Transcurridos 15 minutos de la aplicación de los discos, incubar las placas.
- Es fundamental la distancia de colocación de los discos para una correcta interpretación de los resultados.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Dejar que los envases conteniendo el producto alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlos.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.

Monodiscos de EDTA

- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- Consenso sobre criterio de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad en los BNNF de importancia clínica. 2011. Subcomisión de Antimicrobianos de SADEBAC, Asociación Argentina de Microbiología.

- 24° Curso Intensivo de Actualización en antimicrobianos "Dra Alicia Rossi", 22° Curso Latinoamericano de Actualización en Antimicrobianos. 2010. Servicio de Antimicrobianos, Departamento Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS "Doctor Carlos G. Malbran".

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

- Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
- Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

SÍMBOLOS UTILIZADOS



DIAGNÓSTICO
IN VITRO



CÓDIGO N°



ELABORADOR



ESTÉRIL



N° DE
DETERMINACIONES



LOTE N°



FECHA DE
VENCIMIENTO



LÍMITE DE
TEMPERATURA



INSTRUCCIONES
DE USO

HOJA 3 DE 3