

MONODISCOS CEFTAZIDIMA-AVIBACTAM 10 – 4 µg

REF	B1135427
-----	----------

IVD

→ USO

Discos empleados en las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión en Mueller Hinton Agar en bacterias Gram negativas que incluyen miembros de la familia Enterobacteriaceae y Pseudomonas aeruginosa. Producto listo para usar, de Uso in Vitro y Uso Profesional Exclusivo.

FUNDAMENTO

Los monodiscos de Ceftazidima – Avibactam 10 – 4 µg son productos listos para usar, de Uso in Vitro y Uso Profesional Exclusivo empleados en las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, mediante la técnica de Kirby-Bauer, en bacterias Gram negativas que incluyen miembros de la familia Enterobacteriaceae (nueva taxonomía Enterobacterales) y Pseudomonas aeruginosa. Están compuestos por una cefalosporina de tercera generación (ceftazidima) y un componente diazo-biciclo-octano (avibactam), de naturaleza no β lactámica, que actúa como inhibidor reversible de enzimas beta lactamasas de clase A de Ambler (como por ejemplo KPC), Clase C y algunas serino β-lactamasas clase D. Ceftazidima avibactam ha sido aprobado como terapia de rescate para infecciones por Enterobacterias y/o Pseudomonas aeruginosa con extrema resistencia, como los productores de KPC, siempre y cuando se demuestre sensibilidad in vitro a este compuesto.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN:

- 1 (un) envase por 50 discos. Para realizar 50 determinaciones.
 - 3 (tres) envases por 50 discos cada uno. Permite realizar 150 determinaciones.
 - 5 (cinco) envases por 50 discos cada uno. Permite realizar 250 determinaciones.
- La composición de los discos es la recomendada por el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) año 2018 y es la siguiente:
Ceftazidima: 10 µg por disco.
Avibactam: 4 µg por disco.

INSTRUCCIONES

Producto listo para usar

ALMACENAMIENTO

Entre -20 y 0 °C.
El producto puede mantenerse refrigerado entre 2 a 8 °C, por un tiempo no mayor de siete días.

PROCEDIMIENTO

Realizar la Prueba de Sensibilidad a los Antimicrobianos según la siguiente técnica (adaptada de Bauer, Kirby y cols):

a) Medio de cultivo a utilizar: Mueller Hinton Agar.

Debe controlarse que el pH del mismo se encuentre entre 7.2 y 7.4 y que el espesor del medio de cultivo sea de 4.0 ± 0.5 mm. En caso de tener que preparar el medio de cultivo y distribuirlo en placas de Petri estériles, considerar lo siguiente:

- Volumen del medio por placa: verter 25 a 30 ml de Mueller Hinton Agar (el cual se encuentra estéril, fundido y enfriado a 50-55°C) en placas de Petri estériles para obtener una capa de 4.0 ± 0.5 mm de espesor. Es fundamental respetar esta condición, pues de lo contrario, se obtendrán halos mayores (a menor espesor del agar) o halos menores (a mayor espesor del agar).

- Superficie del medio de cultivo: la superficie del Mueller Hinton Agar debe estar seca previo al uso. No se deben visualizar gotas de agua en el medio de cultivo ni en la tapa de las placas. En caso de ser necesario, secar las placas a 33 – 37 °C durante 10 a 30 minutos o sobre flujo laminar (hasta eliminar toda gota de agua presente). No sobresecar las placas.

b) Muestra:

Condiciones de los cultivos originales: el antibiograma se realiza a partir de cultivos monomicrobianos de las cepas en estudio.

Preparación del inóculo bacteriano: se toman entre 3 a 5 colonias del cultivo original de toda la noche (incubación 16 a 24 horas) con un ansa o hisopo estéril, se introducen en 3 - 5 ml de solución fisiológica y se ajusta la turbidez a la equivalente del tubo 0.5 de la escala de Mc Farland.

Importante: las colonias seleccionadas deben ser morfológicamente similares.

Aclaración: el tubo 0,5 de la escala de Mc Farland se preparó añadiendo 0.5 ml de 0.048 M BaCl₂ (1.175 % p/v BaCl₂ 2 H₂O) a 99.5 ml de 0.36 N H₂SO₄. La turbidez se verificó en un espectrofotómetro con haz de luz de 1 cm en la cubeta correspondiente y se controló que la lectura estuviera entre 0.08 y 0.13 unidades de absorbancia a 625 nm.

c) Siembra en Placas:

La suspensión microbiana preparada en el paso anterior debe ser utilizada dentro de los 60 minutos de preparada, siendo el tiempo óptimo de uso dentro de los 15 minutos de preparada.

El inóculo bacteriano (suspensión bacteriana) obtenido como se indicó en el paso anterior es absorbido con un hisopo. El exceso de líquido se descarta oprimiendo la punta del hisopo contra la pared del tubo. Se inocula la superficie seca del agar Mueller Hinton por hisopado en tres direcciones para asegurar una completa distribución del inóculo. Se dejan secar las placas hasta 15 minutos antes de proceder a aplicar los discos.

d) Aplicación de los discos:

Permitir que los discos alcancen la temperatura ambiente antes de abrir los frascos contenedores. Esto se realiza para prevenir la condensación de producto. Mediante el uso de una pinza aplicar los discos sobre la superficie del agar teniendo la precaución que los discos contacten bien con la superficie del agar, ejerciendo para ello, ligera presión sobre los mismos.

Importante: aplicar los discos dentro de los 15 minutos de inoculadas las placas y a una distancia apropiada entre ellos para evitar superposición de halos de inhibición del desarrollo microbiano.

Importante: los discos no deben ser removidos luego que han sido aplicados ya que la difusión inicial de los antimicrobianos es muy rápida.

e) Incubación:

Dentro de los 15 minutos de la aplicación de los discos, las placas deben incubarse invertidas en aerobiosis, a 34-36 °C, durante 16-20 horas.

f) Proceso de medición:

Para cada disco aplicado, se mide y registra el diámetro de halo de inhibición del desarrollo utilizando calibre ó regla calibrada. El halo de inhibición del desarrollo determinado corresponde a la inhibición completa y es leído con luz incidental, a simple ojo, sobre el reverso (contra-tapa) de la placa de Petri sobre fondo oscuro y sosteniendo la placa aproximadamente a 30 cm del ojo humano.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Cuando se procesan cepas clínicas de Enterobacterias y Pseudomonas aeruginosa, puede interpretarse que el microorganismo es sensible o resistente teniendo en cuenta los siguientes criterios de interpretación (de acuerdo a las normas EUCAST que se mencionan en las Referencias y modificaciones propuestas por el Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos-LNR-, de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud, Ministerio de Salud de la Nación de la República Argentina):

MICROORGANISMO	HALO DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO (MM)	INTERPRETACIÓN
ENTEROBACTERIACEAE (NUEVA TAXONOMÍA: ENTEROBACTERIALES)	IGUAL O MAYOR A 13	SENSIBLE
ENTEROBACTERIACEAE (NUEVA TAXONOMÍA: ENTEROBACTERIALES)	MENOR A 13	RESISTENTE
PSEUDOMONAS AERUGINOSA	IGUAL O MAYOR A 17	SENSIBLE
PSEUDOMONAS AERUGINOSA.	MENOR A 17	RESISTENTE
PSEUDOMONAS AERUGINOSA.	15-16	ÁREA DE INCERTIDUMBRE TÉCNICA

ÁREA DE INCERTIDUMBRE TÉCNICA:

Esta categoría ha sido propuesta recientemente por EUCAST para alertar al laboratorio sobre la necesidad de utilizar una estrategia (casi siempre una metodología alternativa a la empleada) para asegurar la exactitud del resultado. No debe ser comunicada al cuerpo médico responsable del cuidado del paciente hasta la resolución de la incertidumbre del resultado.

El LNR ha propuesto un área de incertidumbre técnica para la prueba de sensibilidad a ceftazidima avibactam en Pseudomonas aeruginosa cuando las zonas de inhibición obtenida son de 15 y 16 mm inclusive.

CONTROL DE CALIDAD

Se sugiere realizar el control de calidad a cada lote de discos una vez que se adquiere y también en el tiempo con determinada frecuencia, ya que así se evalúa la calidad de los discos (incluida su conservación), la calidad del medio de cultivo y de la metodología utilizada.

Realizar la Prueba de Sensibilidad a los Antimicrobianos según la técnica detallada más arriba en este manual, utilizando los microorganismos control de calidad Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 y Klebsiella pneumoniae ATCC 700603

Resultados del control de calidad

Valores de referencia (rangos de diámetro de halo de inhibición del desarrollo para cada microorganismo control de calidad).

MICROORGANISMO	RANGOS DE DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN DEL DESARROLLO (MM)
ESCHERICHIA COLI ATCC 25922	24 - 30
PSEUDOMONAS AERUGINOSA ATCC 27853	21 - 27
KLEBSIELLA PNEUMONIAE ATCC 700603	18 - 24

LIMITACIONES

Es de fundamental importancia tener en cuenta que este método solamente tiene valor si se respeta una distancia que separe los discos, suficiente para limitar las probabilidades de superposición importante de zonas de inhibición. Por consiguiente, se recomienda aplicar hasta 6 discos en una placa convencional de 90 mm (la usada comúnmente en nuestro medio).

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según el requerimiento para realizar la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión con discos.

PRECAUCIONES

- Producto no clasificado como peligroso.
- 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.
- 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.
- 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

- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>.”
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>.”
- EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing - Version 7.0 (January 2019) <http://www.eucast.org>.”
- Assessment of ceftazidime-avibactam CLSI 30/20 µg and EUCAST 10/4 µg disk content versus reference agar dilution/broth microdilution MIC results against Enterobacteriales and Pseudomonas aeruginosa. Fernando Pasteran, Diego Danze, Maria Elena Dattero, y cols. 29th European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. # Abst. 5955, 2019.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

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

AUTORIZACIÓN ANMAT

PM-1292-28
Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

SÍMBOLOS UTILIZADOS

 DIAGNÓSTICO IN VITRO	 CÓDIGO N°	 LOTE N°	 ESTÉRIL
 ELABORADOR	 N° DE DETER- MINACIONES	 INSTRUCCIONES DE USO	 FECHA DE VENCIMIENTO
			 LÍMITE DE TEMPERATURA