DADE BEHRING

MicroScan®

Manual de Procedimento para Gram Negativo Desidratado

As alterações ao manual de procedimentos são indicadas através de sombreamento.

Fim a que se destina

Para utilização com os Painéis Desidratados para Gram Negativo CIM/Painéis Combo e para os Painéis Desidratados Combo de Ponto de Corte para Gram Negativo MicroScan.
Os painéis MicroScan® foram concebidos para serem utilizados na determinação da susceptibilidade do agente antimicrobiano e/ou para a identificação do nível da espécie de bacilos gram negativos aeróbios e anaeróbios facultativos.

Resumo e Princípios

Os testes de susceptibilidade antimicrobiana são miniaturizações de testes de susceptibilidade por diluição em caldos de cultura que foram desidratados. Vários agentes antimicrobianos são diluídos em caldos de cultura de Mueller-Hinton suplementados com cálcio e magnésio a concentrações que se aproximam do intervalo de valores de interesse clínico.[22, 32] Os Painéis Combo de Ponto de Corte utilizam concentrações equivalentes aos pontos de corte de categoria da NCCLS.[22, 32] Os caldos de cultura de Trimetoprim, de Sulfametoxazol e de Trimetoprim/Sulfametoxazol contêm fosforilase de timidina para reduzir os níveis de timidina no meio de cultura. Após a inoculação e a rehidratação com uma suspensão normalizada de microorganismos e uma incubação a 35ºC por um mínimo de 16 horas, a concentração inibitória mínima (CIM) para o organismo testado é determinada por observação da concentração antimicrobiana mais baixa que mostre inibição do crescimento.[1-6, 8-15, 19, 20, 27-32] São utilizados testes convencionais modificados e testes cromogénicos para a identificação de bacilos gram negativos fermentadores e não-fermentadores. A identificação é baseada na detecção de alterações de pH, no substrato utilizado, e no crescimento na presença de agentes antimicrobianos após 16-42 horas a 35ºC.[17-18] Os painéis que contêm Cefpodoxina, Ceftazidina, Aztreonam, Cefotaxime, ou Ceftriaxone a 1 µg/ml podem ser utilizados para a detecção de estirpes de *Escherichia coli, Klebsiella oxytoca*, ou de *K. pneumoniae* suspeitas de produzirem beta-lactamases de espectro alargado (ESBL).

	Português
	Chave dos símbolos
	Fabricado por
EC REP	Representante autorizado
IVD	Dispositivo de diagnóstico médico *In Vitro*
LOT	Código de fabrico
EXP YYYY-MM-DD	Data "Utilizar até" no formato ano-mês-dia
	Limitação de temperatura
CE	Marca CE
REF	Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização
	Facilmente inflamável
	Irritante/ Nocivo
	Corrosivo
	Tóxico
R22	Nocivo por ingestão.
S24	Evitar o contacto com a pele.
S25	Evitar o contacto com os olhos.
S46	Em caso de ingestão, consultar imediatamente um médico e mostrar-lhe a embalagem ou etiqueta.

Precauções

1. Unicamente para diagnóstico *in vitro*.
2. Observar as técnicas assépticas e as precauções estabelecidas contra os perigos microbiológicos durante todos os procedimentos, com especial atenção ao facto de que os painéis inoculados contêm organismos potencialmente patogénicos.
3. Todos os materiais devem ser esterilizados em autoclave antes de serem eliminados.

CE

4. Para efeitos de diagnóstico e tratamento, os resultados deste teste devem sempre ser interpretados em conjunto com o histórico médico do doente, a apresentação clínica e outras indicações.

Substratos de identificação	Abrev.	Substratos de identificação	Abrev.
Glicose	GLU	Voges-Proskauer	VP
Sucrose	SUC	Citrato	CIT
Sorbitol	SOR	Malonato	MAL
Rafinose	RAF	o-Nitrofenil-β-D-Galactopiranósido	ONPG
Ramnose	RHA	Tartrato	TAR
Arabinose	ARA	Acetamida	ACE
Inositol	INO	Cetrimida	CET
Adonitol	ADO	OF Glicose	OF/G
Melibiose	MEL	OF Base	OF/B
Ureia	URE	Decarboxilase Base	DCB
Sulfito de hidrogénio	H_2S	Nitrato	NIT
Indol	IND	Penicilina G 4 µg/ml*	P_4
Lisina	LYS	Canamicina 4 µg/ml*	K_4
Arginina	ARG	Colistina 4 mg/ml*	Cl_4
Ornitina	ORN	Nitrofurantoína 64 µg/ml*	Fd_{64}
Triptofano Deaminase	TDA	Cefalotina 8 µg/ml*	Cf_8
Escolina	ESC	Tobramicina 4 µg/ml*	To_4

* Agentes antimicrobianos utilizados para identificação

Armazenagem

Armazenar os painéis desidratados MicroScan® de 2 - 25° C, incursões permitidas a 30° C.
Temperatura media anual não deve exceder 25° C. Aceitam-se picos de temperatura transitórios, desde que a temperatura média de armazenamento não exceda os 25º C. Podem ser utilizados testes de CQ para avaliar o impacto das incursões de temperatura sobre o desempenho do produto.

Deterioração do Produto

A exposição a condições de armazenamento diferentes das que são recomendadas pode resultar em perda de potência dos agentes antimicrobianos e em descoloração das substâncias bioquímicas. Não utilizar após a data de validade.

Colheita e Preparação da Amostra

As amostras adequadas devem ser colhidas, transportadas e colocadas em meio de isolamento primário conforme os procedimentos recomendados no *Manual of Clinical Microbiology*.[1]

Procedimento

Materiais Fornecidos

Consulte a etiqueta da caixa para obter o conteúdo específico do painel.

Materiais Necessários mas não Fornecidos

Padrão de Turvação de Sulfato de Bário McFarland 0,5.N, N-Dimetil-alfa-naftilamina a 0,5%, 30 ml (B1010-45A)
Ácido Sulfanílico a 0,8%, 30 ml (B1010-44A)
Solução Salina Esterilizada a 0,85%, 3 ml
Pipetador de 10 µl ou de 100 µl com pontas descartáveis esterilizadas ou uma argola calibrada a 10 µl
Cloreto Férrico a 10%, 30 ml (B1010-48A)
Hidróxido de Potássio a 40%, 30 ml (B1010-43A)
Alfa Neftol a 5%, 30 ml (B1010-42A)
Infusão Coração Cérebro (BHI), caldo de cultura 0,5 ml (B1010-30A) ou 4 ml
Tampas de cobertura (B1010-56B)
Equipamento Geral de Laboratório
Conjunto de Inoculador D (B1013-4)
Água do Inóculo (B1015-2)
Água do Inóculo com PLURONIC® , 25 ml(B1015-7)
Reagente de Kovac, 30 ml (B1010-41A)
Visualizador de Microdiluição (B1010-6)
Livro de Código dos Biótipos Gram Negativos MicroScan® (B1010-66D)
Óleo Mineral, 60 ml (B1010-40)

CE

Óleo Mineral, 250 ml – apenas para instrumentos WalkAway® *SI* e para a função de sobreposição WalkAway® (B1010-40[A])
Reagente de Oxidase
Sistema de Inoculação (B1026-10D) Prompt™[**]
Organismos de Controlo de Qualidade (Consultar Tabela de referência de CQ internacional)
Kit do Doseador do Reagente (B1013-12A)
RENOK® - Rehidratador/Inoculador (B1018-14) ou equivalente
Tiras para Selar (B1010-51)
Turbidímetro (B1018-66I)
Vortex
Papel do Rótulo de Código de Barras do Sistema WalkAway® (B1011-16)
Tampas de Painéis WalkAway® (B1018-18)

Resumo do Procedimento

A. Preparação do Painel

1. Retirar os painéis a utilizar do local de armazenamento. Não utilizar se a integridade da embalagem estiver comprometida (não selada, perfurada ou rasgada).
2. Abrir a bolsa e retirar o painel. Se estiver armazenado no frigorífico, retirar imediatamente o painel da bolsa.
3. **Os painéis não devem ser utilizados no caso de se verificar qualquer uma das seguintes condições:**
   a. O dessecante está ausente ou quebrado.
   b. Os poços do painel estão descolorados (por ex. DCB, vários agentes antimicrobianos).
4. Permitir que os painéis atinjam a temperatura ambiente antes da rehidratação. Os painéis podem ser empilhados com uma tampa de painel colocada por cima dos mesmos. Todos os painéis abertos devem ser utilizados no mesmo dia ou então inutilizados.

B. Preparação do Inóculo

(NOTA: Consulte as Limitações do Procedimento, números 9 e 10)

A NCCLS recomenda a verificação periódica da densidade do inóculo através da contagem de colónias. Refira-se ao documento M7- A6, secção 7.3.1 para as recomendações de contagem de colonias. Os resultados esperados para *E. coli* ATCC 25922 devem aproximar-se o mais possível de 5 x 10^5 CFU/ml na concentração final de teste.[34] O utilizador deverá prestar especial atenção á preparação do inóculo nomeadamente com métodos manuais que são tecnico-dependentes como o sistema Prompt ou qualquer método de preparação de inóculo sem presença de um dispositivo fotométrico.

1. **Técnica Padrão de Turvação –** ***Método de Inoculação Primária***
   A técnica padrão de turvação é recomendada para a inoculação directa de todos os bacilos gram negativos aeróbicos.
   a. Utilizando uma zaragatoa de madeira esterilizada ou uma ansa bacteriológica, toque na superfície de 4-5 colónias grandes ou de 5-10 colónias pequenas morfologicamente semelhantes e isoladas de uma placa agár não inibidora de 18-24 horas.
   b Emulsionar em 3 ml de Água do Inóculo (água distilada esterilizada em autoclave). A turvação final deve ser equivalente à de um Padrão de Turvação de Sulfato de Bário de McFarland 0,5. Tape bem.
   c. Misture a suspensão no Vortex durante 2-3 segundos.
   d. Pipetar 0,1 ml (100 µl) da suspensão normalizada em 25 ml de água do inóculo com PLURONIC. Tape bem. Inverter 8-10 vezes para misturar.

---

* surfactantes PLURONIC®, uma marca comercial registada da BASF Corporation, Parsippany, NJ EUA
** 3M, St. Paul, MN EUA .

2. Sistema de Prompt

O Sistema de Prompt pode ser utilizado para inocular bacilos gram negativos. Consulte o manual de procedimento da Inoculação por Prompt para a utilização correcta do Sistema.

3. Técnica de Fase Log

A técnica de fase log, na qual a suspensão bacteriológica é trazida à turvação equivalente a um Padrão de Turvação de Sulfato de Bário de McFarland de 0,5 antes da diluição à concentração pretendida, é recomendado para bactérias de crescimento relativamente lento ou para os espécimens que cheguem tarde no dia.[30]

a. Utilizando uma zaragatoa de madeira esterilizada ou uma ansa bacteriológica, toque na superfície de 4-5 colónias grandes ou de 5-10 colónias pequenas morfologicamente semelhantes e isoladas de uma placa agár não inibidora de 18-24 horas.
b. Emulsionar em 4 ml de caldo de cultura BHI e coloque a incubar a 35ºC durante 2-4 horas. Isto é conhecido como a fase log da suspensão bacteriológica.
c. A seguir à incubação e antes da inoculação do painel, volte a misturar a suspensão no vortex durante 2-3 segundos.
d. Utilizando o caldo de cultura BHI, dilua a suspensão de fase log até uma turvação equivalente a um padrão de McFarland de 0,5.
e. Pipetar 0,1 ml (100 µl) da suspensão normalizada em 25 ml de água do inóculo com PLURONIC. Tape bem. Inverter 8-10 vezes para misturar.

4. Técnica de Fase Estacionária

A técnica da fase estacionária pode ser utilizada com bactérias gram negativas de crescimento rápido.

a. Utilizando uma zaragatoa esterilizada ou uma ansa bacteriológica, toque na superfície de 4-5 colónias grandes ou de 5-10 colónias pequenas morfologicamente semelhantes e isoladas de uma placa agár não inibidora de 18-24 horas.
b. Emulsionar as colónias em 0,5 ml de caldo de cultura BHI. Tape bem.
c. Misture a suspensão no Vortex durante 2-3 segundos.
d. Solte a tampa do tubo e ponha a incubar durante 4-6 horas a 35ºC.
e. A seguir à incubação e antes da inoculação do painel, volte a misturar a suspensão no vortex durante 2-3 segundos.
f. No caso do caldo de cultura estar turvo após a inoculação, transfira 0,01 ml (10 µl) da suspensão para 25 ml de água do inóculo com PLURONIC.Tape bem. Inverter 8-10 vezes para misturar.

C. Teste da Oxidase

Realize um teste da oxidase antes de inocular os painéis. Registe os resultados nos espaços apropriados na folha de cálculo ou conforme pedido pelos instrumentos. O reagente da oxidase recomendado é o tetrametil-p-fenileno-diamina-dihidrocloreto.

D. Painel de Rehidratação/Inoculação

A rehidratação e a inoculação são realizadas utilizando o sistema RENOK® com inoculadores D. Consulte o manual do utilizador RENOK® para a sua utilização. Se for utilizado um método alternativo, rehidratar com 115 µl ± 10 µl de Água do Inóculo (PLURONIC). Deve ser obtida uma concentração final dos poços de 3-7x10^5 CFU/ml. Para assegurar a viabilidade e a pureza do organismo testado, pode ser preparada uma placa de pureza semeando o inóculo numa placa de agár com sangue e incubar durante 16-20 horas. Se estiverem presentes dois ou mais tipos de colónias na placa de pureza, volte a isolar as colónias e volte a testar.

E. Sobreposições Bioquímicas

1. Utilizando um frasco doseador, cubra os poços GLU, URE, H_2S, LYS, ARG, ORN e DCB com 3 gotas de óleo mineral. (Estes poços estão sublinhados no painel).
2. O meio nos poços deve estar totalmente coberto com óleo mineral, mas o óleo não deve passar para fora dos poços.

   NOTA: Os instrumentos WalkAway® *SI* (e os instrumentos WalkAway® melhorados com a função automática de sobreposição de óleo) adicionam automaticamente o óleo aos poços apropriados.

F. Tira para Selar

Apenas no caso de organismos de oxidase positivo, coloque uma tira para selar sobre os poços CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B e DCB. O orifício localizador com 6,4 mm (1/4 pol.) na banda deve estar alinhado sobre o poço DCB. Nos Sistemas WalkAway, a tampa é utilizada em vez da tira para selar.

G. Incubação

1. Para assegurar uma distribuição térmica homogénea durante a incubação, sobreponha os painéis em grupos de 3-5.
2. Coloque um Tampa de Cobertura limpo sobre cada grupo de painéis para evitar a evaporação. As tampas de Cobertura podem ser reutilizadas. Não descontaminar as tampas de Cobertura com álcool. Podem ser limpos com água e sabão. Passe bem por água e deixe secar ao ar.
3. Incubar os painéis um mínimo de 16 horas a 35ºC numa incubadora sem CO_2.

H. Ler os Painéis

Os painéis podem ser lidos manualmente utilizando o Visualizador de diluição MicroScan® ou na instrumentação MicroScan® (touchSCAN®-SR, autoSCAN®-4, e sistemas WalkAway®). Consulte os manuais de utilizador apropriados para a leitura de painéis com instrumentos MicroScan®.

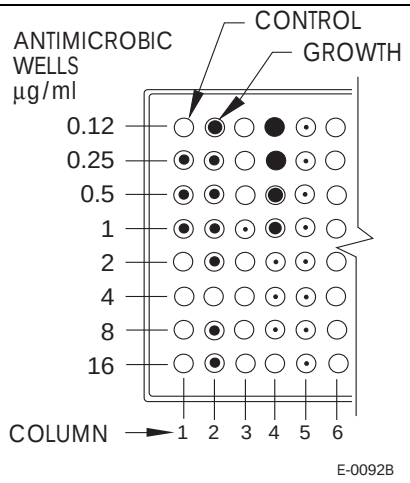
1. A seguir a uma incubação de 16-20 horas, retire os painéis da incubadora.
2. Limpe a base do painel com um lenço sem fibras para remover quaisquer condensações ou detritos que possam estar presentes.
3. Leia os painéis apenas se o poço de crescimento estiver turvo. Não leia os antimicrobianos se o poço de controlo estiver turvo, ou se não houver crescimento no poço de crescimento. O crescimento nos poços antimicrobianos aparece como turvação, o que pode tomar a forma de uma névoa branca através do poço, de um botão branco no centro do poço, ou de um crescimento granular fino através do poço. Um crescimento inadequado é definido como uma ligeira brancura no poço ou no caso de o caldo de cultura estar límpido.
4. No caso de os resultado serem lidos manualmente, registe os resultados na folha de cálculo apropriada.
5. Leitura de Susceptibilidades Antimicrobianas.
    a. Leia todos os antimicrobianos e o CET contra um fundo preto (iluminação indirecta).
    b. Registe os resultados de Susceptibilidade/Ponto de Quebra do seguinte modo:
        1) Resultados da CIM
            a). Depois de uma incubação de 16-20 horas, registe a CIM como o último poço que mostra inibição do crescimento, começando pela concentração mais elevada.
            b) Quando ocorre crescimento em todas as concentrações de um antimicrobiano, a CIM registada é maior do que (>) a concentração mais elevada.
            c) Quando não ocorre crescimento em qualquer das concentrações dos antimicrobianos, a CIM registada é menor ou igual (≤) à concentração mais baixa.
            d) Um poço límpido numa série de poços de crescimento, p.ex., crescimento a 1, 2 e 8 µg/ml, mas não a 4 µg/ml é chamado um poço salteado e deve ser ignorado.
        2) Resultados de Ponto de Corte
            a) A seguir a uma incubação de 16-20 horas, a falta de crescimento nos antimicrobianos é registada como "S" (Susceptível).
            b) Um crescimento nas concentrações mais baixas do antimicrobiano, mas não nas concentrações mais elevadas, é registado como "I" (Intermédio).
            c) Um crescimento em ambas as concentrações do antimicrobiano ou num poço único de uma diluição de antimicrobiano é registado como "R" (Resistente).
            d) Se existe crescimento na concentração mais elevada do antimicrobiano mas não na concentração mais baixa, o poço pode estar contaminado e o teste deve ser repetido.
        3) Crescimentos em mancha em poços isolados indicam contaminação. O teste deve ser repetido.
        4) Poderá observar-se um "efeito de arrastamento" em algumas combinações de droga/organismo, tais como *Proteus* com Cefuroxime (Crm) e Imipenem (Imp), *Serratia* com antibióticos beta-lactâmicos (ex: Imipenem (Imp) e Piperacilina/Tazobactam (P/T)), *E. coli* com Sulfametoxazol (Sx) e *B. cepacia* e *B. pseudomallei* com Ceftazidima (Caz) e

Piperacilina (Pi). O rasto também pode ser observado com Trimetoprim/Sulfametoxazole (T/S), Trimetoprim (T) e Sulfametoxazol (Sx) com a utilização do Sistema RENOK® de Rehidratação/Inoculação devido à concentração do inóculo. O objectivo deve ser lido como a concentração mais baixa na qual, em comparação com o crescimento do poço, apresenta:

a) redução do crescimento de aproximadamente 80% (T/S, T, Sx)
b) um botão branco com menos de 2mm de diâmetro, ou
c) um botão branco semi-translúcido.[1]

Indicadores Típicos

Poço de controlo límpido, botão grande no poço de crescimento.
Botões típicos de crescimento nas colunas 1 e 2;
A coluna 2 apresenta poços de crescimento "salteados" que devem ser ignorados.
Este botão único na coluna 3 cercado por poços límpidos por cima e por baixo indica contaminação pontual e deve ser ignorado.
CIM na coluna 1 = 2 µg/ml (concentração mais baixa do poço límpido).
CIM na coluna 2 = > 16 mg/ml (crescimento em todos os poços).
CIM na coluna 3 = ≤ 0,12 µg/ml (sem crescimento em qualquer poço).
CIM na coluna 4 = 2 µg/ml (efeito de rasto nos poços 2-8; efeito típico de rasto de T/S).
CIM na coluna 5 = ≤ 0,12 µg/ml (efeito de rasto em todos os poços, portanto a CIM é ≤. Isto é típico de algumas combinações antimicrobiano/microorganismo).
CIM na coluna 6 = ≤ 0,12 µg/ml



6. Leitura de Identificação de Substratos
   a. Efectue a leitura de todos os substratos de identificação em fundo branco excepto o CET e os antimicrobianos utilizados para identificação (Cl_4, Cf_8, P_4, K_4, Fd_{64}, To_4) que devem ser lidos sobre fundo preto (iluminação indirecta).
   b Fermentadores de glucose – Se após 16-24 horas de incubação, o GLU se apresenta amarelo forte, o microorganismo é um fermentador de glucose e devem ser lidos os 24 testes de fermentador de glucose. No caso de a reacção da glucose se apresentar cor de laranja ou vermelho, o microorganismo não é um fermentador de glucose. Algumas espécies não fermentativas de glucose podem produzir uma coloração dourada que deve ser considerada negativa. Algumas espécies de *Pasteurella* não crescerão no poço de glucose se este estiver coberto com óleo mineral mas fermentarão a sucrose e/ou o sorbitol. No caso do poço GLU não mostrar crescimento **e** o SUC ou o SOR forem positivos, tratar como um fermentador de glucose.
   c. Não fermentadores de glucose – Os organismos não fermentadores de glucose podem ser lidos após 16-24 horas de incubação, no caso de qualquer das seguintes combinações de testes serem positivas: (1) ARG e OF/G ou ARG e CET, (2) LYS, ou (3) ORN. Se todas estas reacções forem negativas e existir crescimento no poço de crescimento, registe os CIM, CET, e os antimicrobianos utilizados para a identificação e volte a incubar por mais 24 horas antes de efectuar uma leitura final e identificação.
   d. Se, depois de nova incubação, o microorganismo continuar não reactivo, verifique que o microorganismo teve crescimento nos hidratos de carbono de fenol vermelho (em particular no caso de ter havido pouco ou nenhum crescimento no controlo de crescimento de Mueller-Hilton). No caso de não se apresentar crescimento nos hidratos de carbono de fenol vermelho, deve-se suspeitar de um microorganismo fastidioso tal como um *Vibrio* halofílico ou uma espécie de *Yersinia* que apresenta um melhor crescimento a 25ºC, ou um membro do grupo *Pasteurella/Actinobacillus*. Uma coloração de Gram deve ser repetida para confirmar que se trata de um organismo gram-negativo.
   No caso de se suspeitar de um *Vibrio* halofílico, volte a testar emulsionando várias colónias em 3,0 ml de solução salina esterilizada a 0,85%. A turvação final deve ser equivalente a um Padrão de Turvação de Sulfato de Bário de McFarland 0,5. Volte a hidratar o painel com 25 ml de Água para Inoculação com PLURONIC não inoculada utilizando um RENOK®. Utilizando uma pipeta

de distribuição esterilizada, adicione uma gota (45-50 µl) da suspensão salina a cada poço de identificação incluindo os poços de crescimento, e os poços Cl_4 e Cf_8. Incubar os painéis a 35ºC durante 16-24 horas.

e. Antes da leitura, adicionar os reagentes do seguinte modo:
   1) Adicionar uma gota de hidróxido de potássio (KOH) a 40% e a seguir um gota de alfa naftol a 5% ao poço VP. Espere pelo menos 20 minutos para que a reacção VP se desenvolva.
   2) Adicionar 1 gota de cloreto férrico a 10% ao poço TDA. A coloração será imediatamente desenvolvida.
   3) Adicionar 3 gotas do reagente MicroScan® de Kovac* ao poço IND. A coloração será imediatamente desenvolvida.
   4) Para todos os microorganismos de CQ e os não fermentativos clínicos, adicionar 1 gota de ácido sulfanilico a 0,8% e, em seguida, uma gota de N, N-dimetil-alfa-naftilamina ao poço NIT. Esperar pelo menos 5 minutos antes de efectuar a leitura para a reacção NIT se desenvolver.

f. Consulte a secção RESULTADOS para obter ajuda na interpretação bioquímica.

Controlo de Qualidade

A aceitabilidade dos meios de identificação e dos agentes antimicrobianos deve ser verificada testando os organismos em reacções e intervalos de CIM conhecidos. Consultar a Tabela de referência de CQ internacional para obter organismos de Controlo da Qualidade e os resultados de ponto final aceitáveis.

* O reagente de Kovac MicroScan® é uma fórmula especial concebida para a utilização com os instrumentos MicroScan® Apenas uma gota deve ser utilizada no caso de o painel ser lido manualmente.

Resultados

A. Resultados Bioquímicos

1. Interpretações Bioquímicas

Poço	Reagente	Positivo	Negativo
GLU		apenas amarelo forte Alguns não fermentativos podem produzir uma coloração dourada que deve ser considerada negativa.	Laranja a vermelho
SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL		Amarela a amarelo-alaranjado	laranja a vermelho.
URE		Violeta a rosa	Amarelo, laranja ou rosa claro
H_2S		Precipitado Negro ou Botão negro	Ausência de negro
IND	Adicionar 3 gotas (ou uma o caso de o painel ser lido visualmente) do Reagente de Kovac MicroScan®. A coloração desenvolve de imediato.	Rosa a vermelho pálido a laranja *Providencia* sp. pode produzir um anel rosa claro. que deve ser considerado positivo.	Amarelo
Comparar LYS, ARG e ORN com DCB. O DCB deve encontrar-se coberto de óleo para que os seguintes resultados sejam válidos. Para não fermentadores, um teste positivo deve apresentar-se significativamente mais violeta do que a base de controlo. No caso de a base de controlo ser violeta, o meio basal foi alcalinizado e os LYS, ARG e ORN devem todos ser considerados negativos. As espécies *Achromobacter* e *Ochrobactrum anthropi* têm tendência a fazer isto.			
		Fermentadores:	
LYS ARG		Roxo a Cinzento	Amarelo
		Não-fermentadores:	
ORN		Roxo	Sem cor a Cinzento
TDA	Adicionar 1 gota de 10% Cloreto Férrico. A coloração desenvolve de imediato.	Qualquer tom de castanho	Amarelo a Laranja
ESC		Castanho claro a Preto	Beige a sem cor
VP	Adicionar 1 gota de 40% KOH e, em seguida, 1 gota de5% Alpha Naphthol. Esperar pelo menos 20 minutos para que a reacção. desenvolva	Vermelho Alguns não-fermentadores podem produzir uma cor rosa pálida após 18 horas de incubação que deve ser considerado negativo.	Sem cor
ONPG		Amarelo Comparar qualquer poço ONPG que pareça límpido em comparação com o poço de cetrimida. Se ONPG mostrar amarelo em comparação com o poço de cetrimida, registar como positivo.	Sem cor
CIT, MAL, TAR, ACE		Azul a Azul esverdeado Qualquer tom de azul é considerado positivo	Verde a Amarelo
CET		Crescimento	Sem crescimento
OF/G	NOTA: Comparar com o controlo de base OF. Se a base OF estiver verde: Se a base OF estiver azul ou verde azulado:	 Amarelo Amarelo a Verde	 Verde a Azul Azul
NIT	Adicionar 1 gota de 0.8% Ácido Sulfanílico em seguida 1 gota de 0.5% N, N-Dimethyl-alpha-naphthylamine. Espere pelo menos 5minutos para que a reacção se desenvolva	Vermelho	Sem cor a Rosa pálido
P_4, K_4, Cl_4, Fd_{64}, To_4, Cf_8		Crescimento (Resistente)	Sem Crescimento (Susceptível)
LOC	Apenas para reconhecimento de painéis de sistemas autoSCAN®-4 e WalkAway®.		

2. Princípios das Reacções de IdentificaçãoFermentação de Hidratos de Carbono (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): A fermentação de um hidrato de carbono específico resulta na formação de ácido e uma redução do pH é detectada por um indicador de fenol vermelho.

Ureia (URE): O enzima urease quebra a ureia formando amoníaco. O aumento de pH resultante é detectado pelo indicador de fenol vermelho.

Sulfito de Hidrogénio (H_2S): O gás de sulfito de hidrogénio é produzido a partir do tiosulfato de sódio e reage com os iões férricos do meio para produzir um precipitado negro.

Indol (IND): O metabolismo do triptofano resulta na formação de Indol, que é detectado pela adição de reagente de Kovac. Na presença de Indol, desenvolve-se uma coloração vermelha.

Lisina, Arginina, Ornitina (LYS; ARG; ORN): A descarboxilação destes amino ácidos resulta na formação de aminas básicas que são detectadas pelo indicador púrpura bromocresol.

Triptofano Desaminase (TDA): Uma bactéria capaz de desaminar o triptifano produz ácido indolepirúvico, que reage com o citrato de amónio férrico presente no meio após a adição de cloreto férrico para produzir uma coloração castanha.

Hidrólise de Esculina (ESC): A hidrólise da esculina é detectada pelo citrato de amónio férrico no meio, que reage com os produtos hidrolíticos para produzir um precipitado negro.

Voges-Proskauer (VP): A acetoína é produzida a partir de piruvato de sódio e é indicada pela formação de uma coloração vermelha após a adição de Hidróxido de Potássio a 40% seguida de Alfa Naftol a 5%.

Galactosidase (ONPG): A β–galactosidase hidrolisa o orto-nitrofenil-β-D-galactopiranoside, que libera o orto-nitrofenol amarelo.

Citrato, Malonato, Acetamida, Tartrato (CIT; MAL; ACE; TAR): A utilização destes substratos como fonte única de carbono para o metabolismo resulta num aumento de pH que é detectado pelo indicador azul de bromotimol.

Oxidação-Fermentação (OF/G): A oxidação da glucose resulta na formação de ácido e uma redução do pH é detectada pelo indicador azul de bromotimol. O OF/G é comparado com o OF/B (base) para detectar a produção de ácido.

Nitrato (NIT): A capacidade de um microorganismo de reduzir o nitrato a nitrito é detectado pelo adicionamento de ácido sulfanílico seguido de N, N-Dimetil-alfa-naftilamina, que produz uma coloração vermelha na presença de nitrito.

Cetrimida (CET): A tolerância à cetrimida é demonstrada pelo crescimento em caldo de cultura de Mueller-Hinton suplementado com cetrimida.

Penicilina, Canamicina, Colistina, Cefalotina, Nitrofurantoina, Tobramicina (P_4, K_4, CI_4, Cf_8, Fd_{64}, To_4): A resistência a concentrações específicas destes agentes antimicrobianos é demonstrada pelo crescimento.

3. Identificação de Microorganismos

O Livro de Código do Biótipo de Bacilos Aeróbios Gram Negativos MicroScan é utilizado para a identificação de organismos desconhecidos para teste. O livro de códigos consiste de duas partes: Bacilos Aeróbios Gram Negativos Fermentadores de Glucose e Bacilos Aeróbicos Gram Negativos Não Fermentadores de Glucose/Fermentadores Lentos de Glucose. Estes livros de códigos foram gerados a partir da base de dados própria da MicroScan para os testes incluídos nos painéis Gram Negativo Desidratados. O livro de códigos gram negativo permite uma análise computadorizada de 23 a 24 testes. Estes testes são traduzidos para um número de biótipo de 8 dígitos. Consulte o livro de códigos ou o Manual de Microbiologia para obter o método de registo dos resultados. O livro de códigos apresenta uma listagem da identificação de microorganismos e as probabilidades relativas. Todas as possibilidades são impressas por ordem da probabilidade mais alta até ao total acumulado de 99,9%.

No caso de ocorrer um número de biótipo que não se encontra no livro de códigos, deve-se suspeitar em primeiro lugar de um erro de procedimento. Se os testes repetidos resultarem nos mesmos resultados, telefonar para os Serviços Técnicos. Consulte a última página para obter os números de telefone apropriados.

B. Interpretação dos Resultados

A susceptibilidade é determinada por comparação da CIM de um microorganismo com o nível sanguíneo ou urinário atingível do antimicrobiano. A tabela seguinte apresenta uma listagem dos critérios interpretativos tal como indicados no documento M100-S9 da NCCLS. Alguns destes diferem

dos pontos de corte interpretativos do fabricante listados na edição de 1997 de Physicians' Desk Reference.

A MicroScan oferece dois Despistes separados de Beta-Lactamase de espectro alargado.

1. Despiste de Beta-Lactamase (ESBL) de Espectro Alargado

   Certos membros de *Enterobacteriaceae*, especialmente *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli*, proporcionam enzimas de beta-lactamase novas, capazes de hidrolizar as cefalosporinas de espectro alargado (e.g. cefotaxime, ceftriaxone, ceftizoxime, e ceftazidime) e aztreonam. Estas novas enzimas possuem frequentemente padrões de sensibilidade pouco usuais para a classe beta-lactamica de antibióticos. Um despiste ESBL contendo ceftazidime e uma concentraçã fixa de 2µg/ml de ácido clavulânico está incluído nos painéis Neg para ajudar na detecção de possíveis estirpes produtoras de ESBL. As estirpes de Klebsiella ou *E. coli* com resultados CIM BSE (ceftazidime/ácido clavulânico) inferiores aos resultados CIM com Ceftazidime MIC podem ser suspeitos de serem produtores de ESBL.[33]

2. Despiste de Beta-Lactamase de Espectro Alargado por Software

   Para o software da versão 22.01, e superiors, a DMS também fornece um despiste de ESBL personalizável. Este despiste utiliza as CIM dos antibióticos Ceftazidime (CAZ), Aztreonam (AZT), Cefotaxime (CFT) e Ceftriaxone (CAX). Para obter mais pormenores, consultar o manual do MicroScan New Extended-Spectrum β–Lactamase Screen for Spanish Version 23.10.[32]

Pontos de Corte Interpretativos*

Agentes Antimicrobianos	Abrev.	Sensível	Intermédio	Resistente
Amicacina	Ak	≤ 16	32	≥ 64
Amoxicilina/Clavulanato de K-*Enterobacteriaceae*	Aug	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16
Amoxicilina[4] – *Enterobacteriaceae*	Amx	≤ 8	16	≥ 32
Ampicilina[3]-*Enterobacteriaceae* e *V. cholerae*	Am	≤ 8	16	≥ 32
Ampicilina/Sulbactam - *Enterobacteriaceae* e *Acinetobacter* spp.	A/S	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16
Aztreonam[5]	Azt	≤ 8	16	≥ 32
Cefazolina[1]-*Enterobacteriaceae*	Cfz	≤ 8	16	≥ 32
Cefepime	Cpe	≤ 8	16	≥ 32
Cefixime - *Enterobacteriaceae*	Cfe	≤ 1	2	≥ 4
Cefonicide - *Enterobacteriaceae*	Cfc	≤ 8	16	≥ 32
Cefoperazona	Cfp	≤ 16	32	≥ 64
Cefotaxime[1, 5]	Cft	≤ 8	16-32	≥ 64
Cefotetan - *Enterobacteriaceae*	Ctn	≤ 16	32	≥ 64
Cefoxitina[1] - *Enterobacteriaceae*	Cfx	≤ 8	16	≥ 32
Cefpodoxima[4] - *Enterobacteriaceae*	Cpd	≤ 2	4	≥ 8
Ceftazidima/Clavulanato de K[3]	BSE	-	-	-
Ceftazidima[1, 5]	Caz	≤ 8	16	≥ 32
Ceftizoxime	Cz	≤ 8	16 – 32	≥ 64
Ceftriazona[1, 5]	Cax	≤ 8	16-32	≥ 64
Cefuroxima acetil (oral) - *Enterobacteriaceae*	Crm	≤ 4	8-16	≥ 32
Cefuroxima sódio (parenteral) - *Enterobacteriaceae*	Crm	≤ 8	16	≥ 32
Cefalotina - *Enterobacteriaceae*	Cf	≤ 8	16	≥ 32
Cloranfenicol[4] – *V. cholerae* e gram negativos que não *P. aeruginosa*	C	≤ 8	16	≥ 32
Ciprofloxacina	Cp	≤ 1	2	≥ 4
Colistina[2, 4] – gram negativos incluindo *P. aeruginosa*	Cl	≤ 2		≥ 4
Doxiciclina[4] – *V. cholerae* e gram negativos incluindo *P. aeruginosa*	Dox	≤ 4	8	≥ 16
Fosfomicina[2]	Fos	≤ 32	-	>32
Gentamicina	Gm	≤ 4	8	≥ 16
Imipenem	Imp	≤ 4	8	≥ 16
Mecillinam[2] –*Enterobacteriaceae*	Mec	≤ 2	4 – 8	> 8
Meropenem	Mer	≤ 4	8	≥ 16

Mezlocilina[1] *P. aeruginosa*	Mz			
outros gram negativos		≤ 64		≥ 128
		≤ 16	32 – 64	≥ 128
Ácido Nalidíxico-*Enterobacteriaceae*	NA	≤ 16	-	≥ 32
Netilmicina	Nt	≤ 8	16	≥ 32
Nitrofurantoína-*Enterobacteriaceae*	Fd	≤ 32	64	≥ 128
Norfloxacina	Nxn	≤ 4	8	≥ 16
Ofloxacina	Ofl	≤ 2	4	≥ 8
Pefloxacina[2]	Pef	≤ 1	4	> 4
Ácido Pipemídico[2]	PpA	≤ 8	16	>16
Piperacilina/Tazobactam	P/T			
P. aeruginosa		≤ 64/4	-	≥ 128/4
outros gram negativos		≤ 16/4	32/4-64/4	≥ 128/4
Piperacilina[1]	Pi			
P. aeruginosa		≤ 64	-	≥ 128
outros gram negativos		≤ 16	32-64	≥ 128
Sulfametoxazol[4] - *V. cholerae* e	Sx			
gram negativos que não *P. aeruginosa*		≤ 256		≥ 512
Tetraciclina[4] - *V. cholerae* e	Te	≤ 4	8	≥ 16
gram negativos que não *P. aeruginosa*				
Ticarcilina/K Clavulanato[1]	Tim			
P. aeruginosa		≤ 64/2		≥ 128/2
Outros gram negativos		≤ 16/2	32/2 – 64/2	≥ 128/2
Ticarcilina[1]	Ti			
P. aeruginosa		≤ 64	-	≥ 128
outros gram negativos		≤ 16	32-64	≥ 128
Tobramicina	To	≤ 4	8	≥ 16
Trimetoprim/Sulfametoxazole[4]	T/S	≤ 2/38	-	≥ 4/76

* Baseado nos Breakpoints Interpretativos conforme indicado no Documento M100-S9 da NCCLS. Os agentes antimicrobianos incluídos neste painel não estão provados para serem seguros e eficazes no tratamento de infecções clínicas para todos os organismos testados. Para comunicações sobre resultados de agentes antimicrobianos que mostraram ser activos contra grupos de organismos *in vitro* ou em infecções clínicas, consultar o M100 da NCCLS, Tabelas 1 e 2 ou o folheto farmacêutico informativo.

1. O breakpoint interpretativo da NCCLS para este fármaco difere do breakpoint do fabricante.
2. Com base nos Breakpoints Interpretativos conforme indicado no relatório de 1998 do Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).
3. Não existem breakpoints para este teste.
4. As interpretações para *V. cholerae* existem apenas para os agentes antimicrobianos designados *V. cholerae*.
5. Os isolamentos clínicos de *Klebsiella oxytoca, K. pneumoniae*, e *Escherichia coli* com CIMs aumentadas (≥2 µg/ml) de Cefpodoxime, Ceftazidima, Aztreonam, Cefotaxima ou Ceftriaxona, devem ser suspeitos de acolherem uma beta-lactamase de espectro alargado (ESBL). (A Cefotaxima e o Ceftriaxona são indicadores menos sensíveis a esta concentração). Para obter recomendações para testes e relatórios de confirmação, consulte as actuais normas NCCLS.[22]

Limitações do Procedimento

1. Bactérias fastidiosas – *Haemophilus* e outras bactérias fastidiosas gram negativas não se desenvolverão em caldo de cultura de Mueller-Hinton que não tenha sido enriquecido com suplementos de crescimento.
2. Bactérias anaeróbias – Os painéis de antimicrobianos e os procedimentos aqui descritos são adequados apenas para bacilos anaeróbios facultativos e gram negativos aeróbios.
3. Estudos de investigação sobre a actividade *in vitro* do Cefamandole contra a *Enterobacter* spp. demonstraram uma grande frequência de variantes resistentes presentes nas culturas em caldo de *Enterobacter* spp, sugerindo que a quimioterapia com Cefamandole contra estes microorganismos deve ser cuidadosamente avaliada quando comparada com outras cefalosporinas ou outros agentes antimicrobianos.[8]
4. No caso de existir a identificação de mais do que uma espécie listada para um número específico de biótipo, podem ser necessários testes suplementares listados no livro de códigos para determinar a identificação final.
5. A interpretação dos resultados dos testes requer pessoal clínico treinado que deve fazer uso do seu próprio julgamento, dos seus conhecimentos e de testes confirmatórios adicionais sempre que necessário antes de aceitar a identificação de um microorganismo.
6. Os números de biótipo não devem ser utilizados para a identificação fenotípica de estirpes isoladas de várias amostras do mesmo doente.

7. Os resultados obtidos com as seguintes combinações microorganismo/agente antimicrobiano mostraram CIMs discrepantes quando comparadas com um método de referência . No caso do agente antimicrobiano ser crucial para o tratamento do doente, deve ser utilizado um procedimento alternativo.

Organismo	**Fármaco para o qual, se for crítico para o tratamento do doente, deverá ser utilizado um procedimento alternativo.**	Drogas que não serão mencionadas[1]
Shigella spp.	Ampicilina	
Acinetobacter spp.		Piperacilina/Tazobactam
S. maltophilia		Piperacilina/Tazobactam Azlocilina[2], Carbenicilina[2], Mezlocilina[2], Piperacilina[2], Ticarcilina[2], Cefoperazona[2]

1. Quando a impressão não for suprimida pelo DMS, deve suprimir manualmente o resultado. Consultar o Manual do DMS para obter mais instruções.
2. A impressão não é suprimida nas versões do Sistema de Gestão de Dados (DMS). ≤V23.10

8. Os resultados de testes comparativos entre Painéis Gram Negativos Desidratados MicroScan® e painéis de referência congelados NCCLS não coincidem com os Intervalos Aceitáveis de Controlo de Qualidade NCCLS para *E.coli* ATCC 25922, *E.coli* 35218 e *P.aeruginosa* ATCC 27853 com alguns agentes antimicrobianos.
9. O desempenho dos métodos alternativos foi comparado com os resultados obtidos com Painéis Desidratados lidos manualmente utilizando o método padrão da turvação do inoculado.
10. O desempenho de Cefepime, Meropenem, e Ceftazidima/K Clavulanato não foi estabelecido com os métodos de inóculo da fase logarítmica e estacionária. O inóculo deve ser preparado usando os métodos de turvação ou Prompt™.
11. Os resultados de identificação para isolamentos de *P. aeruginosa* podem não ser fiáveis em doentes com fibrose quística devido a diferenças nas reacções bioquímicas entre estes isolados e outros *P. aeruginosa*. Devem ser utilizados métodos alternativos para a identificação da suspeita de *P. aeruginosa* cultivada de doentes com fibrose quística.
12. Os resultados obtidos em autoSCAN-4 com isolamentos de *P. aeruginosa* de doentes com fibrose quística mostraram CIM discrepantes quando comparados com um método de referência overnight. Devido ao potencial para um crescimento muito ligeiro com *P. aeruginosa* de doentes com fibrose quística, os resultados de CIM para estes isolamentos devem ser obtidos através da leitura manual de painéis ou com um instrumento WalkAway®.
13. Podem observar-se CIM elevados com antimicrobianos beta-lactâmicos (ex: aztreonam) se os painéis estiverem sobre-inoculados com microorganismos tais como *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp., *Proteus* spp, *Morganella* spp., e *Providencia* spp. As concentrações de inóculo são críticas com estes agentes antimicrobianos uma vez que o seu mecanismo de acção envolve a rotura na síntese das paredes de células bacterianas. O utilizador deverá prestar especial atenção á preparação do inóculo nomeadamente com métodos manuais que são tecnico-dependentes como o sistema Prompt ou qualquer método de preparação de inóculo sem presença de um dispositivo fotométrico.

Resultados que induzem em erro

A Norma M7-A4 da NCCLS especifica que podem ocorrer resultados que induzem perigosamente em erro quando testados contra determinados microorganismos. Estas combinações incluem: cefalosporinas e aminoglicosidos de primeira e de segunda geração contra Salmonella e Shigella spp. O Sistema de Gestão de Dados (SGD) registará apenas a CIM, e não a interpretação, sempre que ocorram as combinações microorganismo/antimicrobiano listadas acima.

Valores esperados

Para obter os valores esperados, consulte os Mapas de Percentagens no Livro de códigos dos biótipos de bacilos gram negativos aeróbios MicroScan® ou no Manual de Microbiologia para Fermentadores de Glucose e Não Fermentadores/Fermentadores Lentos de Glucose.

Características de Desempenho

O desempenho dos Painéis Desidratados MicroScan® foi estabelecido em avaliações realizadas em vários laboratórios clínicos. Os agentes antimicrobianos foram testados num painel desidratado MicroScan® utilizando o método de turvação do inóculo, tendo sido submetidos a leitura manual. Estes resultados foram comparados com um sistema de microdiluição de referência para CIM.

Reprodutibilidade

Foram realizados estudos de reprodutibilidade em vários locais clínicos para confirmar a aceitação do desempenho com os métodos recomendados descritos nos Manuais de Procedimento (p.ex, Inoculado Prompt™, leituras dos Instrumentos).

Rastreio ESBL

Os painéis Desidratados para Gram-Negativos MicroScan foram avaliados como método de rastreio da produção de ESBL com isolamentos clínicos de *Klebsiella oxytoca, K. pneumoniae*, e *Escherichia coli*. A sensibilidade e a especificidade do painel foram avaliadas por comparação das CIMs do painel MicroScan com os resultados de caracterização molecular como métodos de referência. A população bacteriológica consistia de 128 estirpes caracterizadas geneticamente e foi realizado num local externo. A sensibilidade foi calculada com as 74 estirpes de ESBL positivo enquanto que a especificidade foi calculada com as 54 estirpes negativas para ESBL incluindo 20 com AmpC beta lactamases. As estirpes com AmpC beta lactamases podem exibir CIMs aumentadas nos 5 fármacos indicadores e não podem ser distinguidas das estirpes com ESBL com os antimicrobianos de rastreio de ESBL sem confirmação. A confirmação Fenotípica das estirpes produtoras de ESBL podem ser obtidas através de um método alternativo. Para obter recomendações para o teste e registo de confirmação, consulte as Normas NCCLS actuais. Cada laboratório é incentivado a desenvolver normas de testes adicionais e/ou a relatar a presença de isolamentos de rastreio positivo. Informações clínicas e de software adicionais podem ser encontradas no Manual ESBL MicroScan.

Referências

1. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R. H. Yolken (eds), 2003. *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington D.C.
2. Barry, A. L. 1970. The Antimicrobic Susceptibility Test, Principles and Practices. Lea and Febiger, Philadelphia, PA, p. 26.
3. Barry, A. L., F. Garcia, and L. D. Thrupp, 1970. An improved single disc method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly growing pathogens. Am. J. Clin. Path. 53:149.
4. Barry, A. L., and L. J. Effinger. 1974. Evaluation of a semi-automated system for preparing microdilutions for antibiotic susceptibility testing. Abst. Annu. Meet. Am. Soc. Micro. #109.
5. Barry, A. L., R. N. Jones, and T. L. Gavan. 1978. Evaluation of the Micro-Media System for quantitative antimicrobic susceptibility testing: a collaborative study. Antimicrob. Agents Chemother. 13:61.
6. Chitwood, L. A. 1969. Tube dilution antimicrobial susceptibility testing: efficacy of a microtechnique applicable to diagnostic laboratories. Appl. Microbiol. 17:707.
7. Ericcson, H. M., and J. C. Sherris. 1971. Antibiotic sensitivity testing: Report of an international collaborative study. Acta Path. Microbiol. Scand., Suppl. 217:1.
8. Findell, C. M., and J. C. Sherris. 1976. Susceptibility of Enterobacter to Cefamandole: Evidence for a high mutation rate to resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 9:974.
9. Fuchs, P. C., R. N. Jones, and H. M. Sommers. 1976. A Manual on the Replicator Method for Bacterial Speciation and Biotyping. ASCP Workshop, Chicago, IL.
10. Gavan, T. L., N. W. McFadden, Jr., and E. L. Cheatle. 1971. Antimicrobial Susceptibility Testing. Am. Soc. Clin. Path. Comm. on Cont. Ed., Chicago, IL.
11. Gavan, T. L., and M. A. Town. 1969. Microdilution method for antibiotic susceptibility testing. Bacteriol. Proc. 73.
12. Gavan, T. L., and M. A. Town. 1970. A microdilution method for antibiotic susceptibility testing. Amer. J. Clin. Path. 53:880.

13. Gavan, T. L., and D. A. Butler. 1974. An automated microdilution method for antimicrobial susceptibility testing p. 88. In A. Balows (ed) Current Techniques for Antimicrobial Susceptibility Testing. C. C. Thomas, Springfield, IL.
14. Gerlach, E. H. 1974. Microdilution I: A comparative study, p. 63. In A. Balows (ed) Current Techniques for Antibiotic Susceptibility Testing. C. C. Thomas, Springfield, IL.
15. Gerlach, E. H., R. J. Taylor, and B. Bauman. 1969. The comparison of a manual and an automated method of routinely performed serial dilution antibiotic sensitivity tests in a large hospital. Am. J. Clin. Pat 52:748.
16. Harwick, H. J., P. Weiss, and F. Fekety, Jr. 1968. Application of microtitration techniques to bacteriostatic and bacteriocidal antibiotic susceptibility testing. J. Lab. Clin. Med. 72:511.
17. Klastersky, J., D. Daneau, G. Swings, and D. Weerts, 1974. Antibacterial activity in serum and urine as a therapeutic guide in bacterial infections. J. Infect. Dis. 129:187.
18. MacFaddin, J. F. 1980. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*, 2nd ed., Williams and Wilkens, Baltimore, MD.
19. MacLowry, J. D., and H. H. Marsh. 1968. Semi-automatic microtechnique for serial dilution antibiotic sensitivity testing in the clinical laboratory. J. Lab. Clin. Med. 72:685.
20. Marymont, Jr., J. H., and R. M. Wentz. 1966. Serial dilution antibiotic sensitivity testing with the microtiter system. Am. J. Clin. Path. 45:548.
21. McCabe, W. R., and G. G. Jackson. 1965. Treatment of pyelonephritis: bacterial, drug and host factors in success or failure among 252 patients. N. Eng. J. Med. 272:1037.
22. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. 1997. Approved Standard M7-A4. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
23. Musher, S. M., J. N. Minuth, S. B. Thorsteinsson, and T. Holmes. 1975. Effectiveness of achievable urinary concentrations of tetracyclines against “tetracycline-resistant” pathogenic bacteria. J. Infect. Dis. 131:S40.
24. Stamey, T. A., W. R. Fair, M. M. Timothy, M. A. Miller, G. Mihara, and Y. C. Lowery. 1974. Serum versus urinary antimicrobial concentrations in cure of urinary tract infections. N. Engl. J. Med. 291:1159.
25. Stamey, T. A., D. E. Govan, and J. M. Palmer. 1976. The localization and treatment of urinary tract infections: the role of bacterial urine levels as opposed to serum levels. Medicine. 44:1.
26. Swartzberg, J. E. 1987. *Antimicrobic Therapy Guide*. 4th ed., MicroScan, West Sacramento.
27. Tilton, R. C., and L. Newberg. 1974. Standardization of the microdilution susceptibility test, p. 77. In A. Balows (ed.) Current Techniques for Antimicrobial Susceptibility Testing. C. C. Thomas, Springfield, IL.
28. Tilton, R. C., L. Lieberman, and E. H. Gerlach. 1973. Microdilution antibiotic susceptibility test: examination of certain variables. Appl. Microbiol. 26:5, 658.
29. Turck, M., R. Lindemeyer, and R. Petersdorf. 1963. Comparison of single-disc and tube-dilution techniques in determining antibiotic sensitivities of gram negative pathogens. Ann Int. Med. 58:56.
30. Washington, J. A., E. Warren, and A. G. Karlson. 1973. Stability of barium sulfate turbidity standards. Appl. Microbiol. 24:6, 1013.
31. World Health Organization. Standardization of methods for conducting microbic sensitivity tests. Second Report of the Expert Committee on Antibiotics. Technical Report Series #210, p. 1. Geneva, 1961.
32. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 1997. NCCLS Document M100-S7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
33. Comité De L’Antibiogramme De La Soçiété Francaise De Microbiologie. Communique 1998. Pathogie Biologie, 1996, 44, Nr. 8, I-VIII.
34. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. 2003. Approved Standard M7-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.

Declaração Garantia

Garante-se o desempenho destes produtos como descrito nas etiquetas e na literatura da MicroScan, quando utilizados de acordo com as respectivas instruções. NÃO EXISTEM QUAISQUER GARANTIAS QUE SE ESTENDAM ALÉM DESTA GARANTIA EXPRESSA E A DADE BEHRING INC NÃO RECONHECE QUAISQUER GARANTIAS INFERIDAS DE MERCANTIBILIDADE OU ADEQUAÇÃO PARA FIM PARTICULAR. A única obrigação da Dade Behring Inc. e a compensação exclusiva para o comprador ao abrigo desta garantia será, por opção da Dade Behring Inc., proceder à reparação ou à substituição dos produtos. Em nenhum caso será a Dade Behring Inc. responsável por quaisquer danos directos, indirectos ou consequenciais relacionados com os produtos.

0800-170417
SAC - Serviço de Atendimento ao Cliente
sac/brazil@dadebehring.com

Importado e distribuído por
DADE BEHRING LTDA.

Rua Geraldo Flausino Gomes, 61 - 1º Andar
Brooklin - São Paulo - SP - CEP 04575-060
Fone (11) 3371-3200 - Fax (11) 3371-3201
CNPJ: 00.897.408/0001-08
Resp. Téc.: Nanci A. Trindade
CRF - SP: 7.297

Dade Behring Inc.
West Sacramento, CA 95691 USA
www.dadebehring.com

EC REP **Dade Behring Limited**
Regus House, Atterbury
Milton Keynes MK10 9RG
United Kingdom

Made in USA

© Copyright 2004, Dade Behring Inc. All Rights Reserved. English equivalent is 3250-7676.

CE