

Lista de verificação para facilitar a implementação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos com os pontos de corte do EUCAST

1

Antes de implementar os pontos de corte e métodos de teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) do EUCAST no laboratório, considerar o seguinte:

1. Comentários marcados em verde foram editados ou incluídos pelo BrCAST.
2. Seguir as recomendações do BrCAST, que é o único comitê de testes de sensibilidade aos antimicrobianos do Brasil oficialmente reconhecido pelo EUCAST. Os comitês nacionais reconhecidos pelo EUCAST são designados NAC (National Antimicrobial Susceptibility Testing Committee) e tem direito a representação no Comitê Geral do EUCAST (http://www.eucast.org/organization/general_committee/)
3. Identificar todos os métodos de TSA utilizados no laboratório (disco-difusão, sistemas automatizados, testes de gradiente e outros). Certificar-se de que todos os métodos estão prontos para implementação, com pontos de corte do EUCAST.
4. Identificar sistemas de apoio que podem ser afetados (acreditação do laboratório, manuais, sistemas de informação do laboratório e sistemas de informação obrigatória).

5. Identificar um líder entre o pessoal de laboratório. O líder terá a responsabilidade de liderar todo o processo de implementação.
6. Entrar em contato com um laboratório que já implementou pontos de corte de sensibilidade e métodos EUCAST. Organizar uma visita técnica.
7. Identificar e informar todos parceiros (pessoal de laboratório, clientes / usuários, programas de vigilância de resistência antimicrobiana, **comissões de controle de infecções** e distribuidores de materiais e dispositivos para testes de sensibilidade antimicrobiana). **Programar compra e estoque de insumos.**
8. **Certificar-se de que os "materiais para TSA" necessários estão disponíveis. Consultar a página do BrCAST para lista de fabricantes que comercializam os discos de sensibilidade com a potência necessária e o ágar MH-F (www.brcast.org.br).**
9. Estabelecer um programa educacional por 3-6 meses dentro do laboratório com uma data pré-determinada para a implementação.
10. Informar aos organizadores dos programas de controle de qualidade externo.
11. Consultar quando necessário, o EUCAST (informações de contato disponíveis em www.eucast.org), **ou preferencialmente o BrCAST (informações de contato disponíveis em www.brcast.org.br).**

Problemas com a implementação de sistemas de TSA automatizados

1. Consultar o NAC (BrCAST) sobre quaisquer questões nacionais.
2. Certifique-se de que o sistema pode suportar os pontos de corte do EUCAST para todos os antimicrobianos necessários. Solicitar ao fabricante para listar as discrepâncias entre as recomendações do Sistema e do EUCAST - estas podem ser diferentes em diferentes pontos no tempo e entre países e / ou instalações.
3. Observar que nas tabelas EUCAST, para alguns antimicrobianos, um "IE" ou um "-" estão no lugar de pontos de corte. Um laboratório que deseja aderir às recomendações do EUCAST não deve utilizar outros pontos de corte, **a não ser quando recomendado pelo BrCAST.**

Problemas com a implementação do método de disco-difusão do EUCAST

O método de disco-difusão do EUCAST baseia-se em um inóculo (McFarland 0,5) que permitirá crescimento confluyente em ágar Mueller-Hinton, com ou sem 5% de sangue desfibrinado de cavalo e 20 mg / L de β -NAD. É importante seguir a descrição do método (disponível em www.eucast.org). **O documento traduzido para o Português está disponível no link (www.brcast.org.br).**

Observar os seguintes detalhes importantes:

- **A suspensão de inóculo deve ter turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland**, de preferência ajustada em dispositivo de medição fotométrica. Exceção: *Streptococcus pneumoniae* (McFarland 0,5 para cultura obtida em placa de ágar de sangue e McFarland 1,0 para cultura obtida em placa de ágar de chocolate).
- **O crescimento deve estar confluyente e uniformemente espalhado sobre o ágar.** Um inóculo correto e uma semeadura adequada devem resultar em uma camada confluyente de crescimento e halos de inibição uniformemente circulares. O inóculo deve estar uniformemente espalhado sobre a superfície do ágar para que se obtenha diâmetros de halos reprodutíveis. Para se evitar um inóculo demasiado pesado de microrganismos Gram-negativos, deve-se ter especial

cuidado ao remover o excesso de fluido do swab, girando-o sobre seu próprio eixo e pressionando-o contra a parede interna do tubo, acima do nível da suspensão, antes da inoculação da placa.

- Aderir à regra 15-15-15 minutos para obter resultados reprodutíveis:
 - 1- Usar o inóculo em até 15 minutos após a preparação.
 - 2- Aplicar os discos em até 15 minutos após a inoculação das placas.
 - 3- Iniciar a incubação em até 15 minutos após a aplicação dos discos.
 Pequenas mudanças nas rotinas atuais do laboratório, tais como a criação de lotes menores de testes podem ser necessárias para aderir à regra "15-15-15".

- Usar discos com conteúdo (potência) correto. O conteúdo dos discos está detalhado nas tabelas de ponto de corte e tabelas de controle de qualidade do BrCAST-EUCAST. Nas tabelas do BrCAST-EUCAST, as células de conteúdo dos discos, que são distintos daquelas recomendadas pelo CLSI, estão preenchidas em vermelho. A Tabela 1 contém a lista dos discos preconizados pelo EUCAST, com conteúdo diferente daquele preconizado pelo CLSI.

Tabela 1 – Discos recomendados pelo EUCAST e com conteúdo distinto daquele recomendado pelo CLSI

Antimicrobiano	Microrganismo	Conteúdo do Disco - EUCAST	Conteúdo do Disco - CLSI
Amoxicilina-ácido clavulânico	<i>Haemophilus</i> spp. e <i>Moraxella catharralis</i>	2-1 µg	20-10 µg
Ampicilina	Todos para os quais o teste está indicado, EXCETO ao testar <i>Enterobacteriaceae</i> , quando é utilizado o disco de 10 µg	2 µg	10 µg
Cefotaxima	Todos para os quais o teste está indicado	5 µg	30 µg
Ceftarolina	Todos para os quais o teste está indicado	5 µg	30 µg
Ceftazidima	Todos para os quais o teste está indicado	10 µg	30 µg
Gentamicina	<i>Enterococcus</i>	30 µg	120 µg
Nitrofurantóina	Todos para os quais o teste está indicado	100 µg	300 µg
Penicilina	Todos para os quais o teste está indicado	1 U	10 U
Piperacilina-tazobactam	Todos para os quais o teste está indicado	30-6 µg	100-10 µg
Vancomicina	Todos para os quais o teste está indicado	5 µg	30 µg

- **Não encurtar ou prolongar o tempo de incubação (16-20 h), exceto quando expressamente indicado nas tabelas, a exemplo de *Corynebacterium*.**

- **Seguir as instruções para a leitura.**

As bordas dos halos de inibição devem ser lidas no ponto de completa inibição do crescimento, avaliado a olho nu. Ler as placas de ágar Mueller-Hinton não suplementado pelo seu fundo, com luz refletida, contra um fundo escuro. Ler as placas de Agar Mueller-Hinton suplementadas com a tampa removida, observando a superfície contendo os discos, sob luz refletida.

5

Sugestões para a implementação do método de difusão em disco EUCAST no laboratório: Um guia prático para o líder

1. Educar o pessoal de laboratório na metodologia de disco-difusão do EUCAST com foco na inoculação de placas e leitura de halos. Uma apresentação de slides está disponível em www.eucast.org. **A versão desse documento em Português está disponível no site do BrCAST (<http://brcast.org.br>).**

2. Iniciar o treinamento prático solicitando que todos os analistas leiam as mesmas placas. O objetivo do exercício é harmonizar a leitura de halos de inibição no laboratório. Novos colaboradores devem realizar esses exercícios antes de serem considerados aptos para o trabalho de rotina. Um guia de leitura está disponível em www.eucast.org. **A versão desse documento em Português está disponível no site do BrCAST (<http://brcast.org.br>).**

- Começar lendo os halos obtidos com duas cepas de controle em ágar Mueller-Hinton, sem suplementos, por exemplo, *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 29213. Escolher quatro antimicrobianos rotineiramente testados com as respectivas espécies. Repetir três dias seguidos. Comparar os resultados dos analistas obtidos em um mesmo dia e aqueles obtidos em dias distintos. Verificar se os valores médios de diâmetro de halo de inibição estão próximos do alvo e todos os valores estão dentro dos intervalos de controle de qualidade. As tabelas de controle de qualidade estão disponíveis em www.eucast.org. **A versão**

desse documento em Português está disponível no site do BrCAST (<http://brcast.org.br>).

- Discutir os resultados durante as reuniões de equipe. Repetir o exercício usando as mesmas cepas de controle e antimicrobianos até que todos obtenham o mesmo resultado.
- Repetir o exercício com *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *E. faecalis* ATCC 29212.
- Repetir o exercício utilizando MH-F (ágar Mueller-Hinton com 5% de sangue desfibrinado de cavalo e 20 mg/L de β -NAD) com *H. influenzae* ATCC 49766 e *S. pneumoniae* ATCC 49619.
- Repetir o exercício com alguns isolados clínicos de microrganismos adicionais, por exemplo, estreptococos dos grupos de A, B, C e G, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus* resistentes à vancomicina e *Stenotrophomonas maltophilia*. Comparar os resultados individuais com a média do grupo.

3. O próximo passo é a preparação do inóculo e a semeadura de placas. O objetivo é obter um crescimento padronizado, homogêneo e confluyente. Os melhores resultados são obtidos quando se utiliza um nefelômetro/espectrofotômetro para controlar a densidade do inóculo. Seja qual for a técnica utilizada para inocular as placas (swab com um rotor de placas ou espalhando com o swab em três direções diferentes), certificar-se de que o crescimento bacteriano resultante seja homogêneo as bordas e os halos não sejam irregulares. Utilizar alguns discos de antimicrobianos que produzam halos bem definidos, de modo que a leitura não seja um problema.

A equipe deve repetir o processo para todas as cepas de controle recomendadas pelo EUCAST. Comparar os resultados dos analistas obtidos em um mesmo dia e aqueles obtidos em dias distintos. Verificar se os valores médios de diâmetro de halo de inibição estão próximos do alvo e se todos os valores estão dentro dos intervalos de controle de qualidade. As tabelas de controle de qualidade estão disponíveis em www.eucast.org.

A versão desse documento em Português está disponível no site do BrCAST

<http://brcast.org.br>.

4. Antes de introduzir a disco-difusão do EUCAST na rotina do laboratório, testar cepas de controle de qualidade diariamente (utilizando todos os discos de antibióticos utilizados rotineiramente) até que os resultados estejam de acordo com as especificações do EUCAST e harmonizados dentro do laboratório.

7

**Você tem perguntas sobre o método de disco-difusão do EUCAST?
Ou você precisa de suporte para a implementação do teste de disco-difusão?**

Entre em contato com o BrCAST na página www.brcast.org.br.

Alternativamente, entre em contato com erika.matuschek@ltkronoberg.se ou com a secretaria do EUCAST.