



Controle de qualidade interno de rotina e estendido para
determinação de concentração inibitória mínima e para disco-
difusão como recomendado pelo EUCAST



**Brazilian Committee on
Antimicrobial Susceptibility Testing**

Versão para Português a partir da versão 6.0 do EUCAST
Válida a partir de 01/03/2016

Geral	Página
Notas	1
Diretrizes do BrCAST para validação inicial dos discos de sensibilidade ou microdiluição	2
Alterações	3

Controle de qualidade de rotina	Página
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	8
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	10
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	11
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49766	13
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 33560	14
Controle do componente inibidor dos discos combinados de β -lactâmicos com inibidor de β -lactamase	15

Controle de qualidade para detecção de mecanismos de resistência por disco-difusão	Página
Produção de ESBL em <i>Enterobacteriaceae</i>	17
Resistência à oxacilina (metecilina) em <i>Staphylococcus aureus</i>	17
Resistência aos glicopeptídeos mediada por VanB em <i>Enterococcus</i>	17
Alto nível de resistência aos aminoglicosídeos em <i>Enterococcus</i>	17
Sensibilidade reduzida aos agentes β -lactâmicos devido a mutações em PBP em <i>Haemophilus influenzae</i>	18

Notas

1. Nas tabelas de controle de qualidade (CQ) do BrCAST-EUCAST, os limites e os alvos estão listados. Os testes com as cepas de controle de qualidade devem gerar valores individuais de concentração inibitória mínima (CIM) ou diâmetro do halo de inibição randomicamente distribuídos dentro dos limites recomendados. Caso o número de resultados seja ≥ 10 , a CIM modal deve ser igual ao valor-alvo estabelecido na tabela e o diâmetro do halo de inibição deve ser próximo ao valor-alvo.

2. Para acesso às normativas ISO consulte o link <http://www.eucast.org/documents/externaldocuments/>.

3. As cepas de controle de qualidade para CQ de rotina do EUCAST são utilizadas para monitorar o desempenho dos testes de sensibilidade. Os testes de controle de qualidade devem ser feitos semanalmente e antes da introdução em rotina de um novo lote de discos ou meio de cultura. Para facilidade de registro e análise dos resultados, recomendamos que o registro seja feito na planilha de controle de qualidade do BrCAST. Para análise dos resultados de CQ, veja o Manual de Disco-Difusão.

4. Cepas produtoras de β -lactamase são recomendadas para verificar o componente inibidor dos discos combinados de β -lactâmico com inibidor de β -lactamase. As cepas devem ser parte do CQ de rotina.

5. As cepas de controle de qualidade do BrCAST-EUCAST para CQ estendido são complementares às cepas de CQ de rotina. Estas cepas são recomendadas para controle dos discos utilizados para detecção de mecanismos específicos de resistência (ESBL, MRSA, VRE, HLAR e mutações de PBP). O CQ estendido deve ser realizado a cada novo lote de meio ou discos ou mensalmente.

6. As células preenchidas em vermelho indicam discos com conteúdo distinto daqueles recomendados pelo CLSI.

Diretrizes do BrCAST para validação inicial dos discos de sensibilidade ou microdiluição

Para implementação da metodologia BrCAST – EUCAST deve ser feita uma validação inicial totalizando 20 testes para cada antimicrobiano. Para que o controle possa ser realizado com frequência semanal, um máximo de 10% dos testes poderá apresentar resultado fora do intervalo esperado.

A partir de crescimento recente obtido em ágar sangue de carneiro a 5%, preparar quatro suspensões distintas em solução de NaCl 0,9% estéril, com turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland.

Semear cada suspensão em pelo menos uma placa de ágar Mueller-Hinton, considerando o número total de discos diferentes a serem testados e um máximo de 12 discos por placa de 150 mm ou até 5 discos na placa de 90 mm. Este procedimento deve ser realizado por 5 dias consecutivos.

Seguir a metodologia quanto ao tempo de incubação e leitura dos halos de inibição. Registrar os valores obtidos na Tabela BrCAST para controle de qualidade. Os testes com as cepas de controle de qualidade devem gerar valores individuais de concentração inibitória mínima (CIM) ou diâmetro do halo de inibição randomicamente distribuídos dentro dos limites recomendados. Caso o número de resultados seja ≥ 10 , a CIM modal deve ser igual ao valor-alvo estabelecido na tabela e o diâmetro do halo de inibição deve ser próximo ao valor-alvo.

Para um total de 20 testes são permitidos até dois (2) erros, ou seja, 10% do total de testes. Caso o total de erros seja de três (3), realizar mais 20 testes, totalizando quarenta testes. Desse modo o número máximo de erros permitido será de quatro (4). Caso o número de erros em 20 testes seja de quatro ou mais, rever a metodologia e todos os insumos utilizados e reiniciar o processo de validação.

Modificações em relação à versão anterior

Versão 6.0 01/03/2016	Modificações
Geral	<ul style="list-style-type: none"> Melhor definição de CQ de rotina e estendido Novos formatos para tabelas de CQ estendido. Os valores alvo de diâmetros de halos de inibição estão expressos em intervalos e não valor único. Por exemplo, intervalo 19-26 e alvo 22-23 mm (ao invés de 23 mm).
<i>E. coli</i> ATCC 25922	<ul style="list-style-type: none"> Limites de CQ adicionados: Ceftobiprole (diâmetro do halo de inibição) e Ceftolozana-tazobactam (CIM e diâmetro do halo de inibição); polimixina B (CIM). Novos comentários: Comentário 9. Comentários revisados: Comentário 10.
<i>E. coli</i> ATCC 35218	<ul style="list-style-type: none"> Tabela movida para "Controle do componente inibidor dos discos combinados".
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<ul style="list-style-type: none"> Limites de CQ adicionados: Ceftolozana-tazobactam (CIM e diâmetro do halo de inibição); polimixina B (CIM). Novos comentários: Comentários 5 e 7. Comentário revisado: Comentário 6.
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<ul style="list-style-type: none"> Limites de CQ adicionados: Dalbavancina, oritavancina e tedizolida (MIC). Ceftobiprole (diâmetro do halo de inibição). Comentários revisados: Comentários 5-7.
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<ul style="list-style-type: none"> Limites de CQ adicionados: Estreptomina (diâmetro do halo de inibição). Novos comentários: Comentários 5-6.
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<ul style="list-style-type: none"> Limites de CQ adicionados: Dalbavancina, oritavancina e tedizolida (MIC). Limites de CQ revisados: Ceftarolina e ceftobiprole (diâmetro do halo de inibição alterado de IP para "-"). Trimetoprim-sulfametoxazol (diâmetro do halo de inibição). Comentários revisados: Comentários 5-7.
<i>H. influenzae</i> NCTC 8468	<ul style="list-style-type: none"> Excluído. <i>H. influenzae</i> ATCC 49766 recomendado para CQ de rotina.
<i>H. influenzae</i> ATCC 49766	<ul style="list-style-type: none"> Limites de CQ adicionados: Ceftibuten, Ceftriaxona, Ciprofloxacino, Levofloxacino, Moxifloxacino e Ofloxacino (diâmetro do halo de inibição). Limites de CQ revisados : Amoxicilina-ácido clavulânico (diâmetro do halo de inibição). Ceftarolina (diâmetro do halo de inibição alterado de IP para "-"). Novos comentários: Comentário 4.
Controle do componente inibidor dos discos combinados	<ul style="list-style-type: none"> Nova tabela. Cepas adicionadas: <i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 e <i>S. aureus</i> ATCC 29213. Limites de CQ adicionados: Ceftolozana-tazobactam (CIM e diâmetro do halo de inibição).
Cepas de controle de qualidade para detecção de mecanismos de resistência	<ul style="list-style-type: none"> Novo formato. Limites de CQ adicionados: Estreptomina (valores-alvo) com <i>E. faecalis</i> ATCC 51922.

Controle de qualidade interno de rotina

***Escherichia coli* ATCC 25922 (NCTC 12241, CIP 76.24, DSM 1103, CCUG 17620, CECT 434)**

Método de Disco-difusão: Ágar Mueller-Hinton, McFarland 0,5, ar, 35±1°C, 18±2h. Leia o limite do halo como o ponto evidenciando ausência de crescimento, visto do fundo da placa contra um fundo escuro, sob luz refletida.

	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (µg)	Diâmetro do halo de inibição	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo ¹	Intervalo ³
Amicacina	1-2	0,5-4	30	22-23	19-26
Amoxicilina	4	2-8	-	-	-
Amoxicilina-ácido clavulânico ^{4,5}	4	2-8	20-10	21	18-24 ⁶
Ampicilina	4	2-8	10	18-19	15-22 ⁶
Ampicilina-sulbactam ^{5,7}	2	1-4	10-10	21-22	19-24 ⁶
Aztreonam	0,125	0,06-0,25	30	32	28-36
Cefadroxila	-	-	30	17	14-20
Cefalexina	8	4-16	30	18	15-21
Cefepima	0,03-0,06	0,016-0,125	30	34	31-37
Cefixima	0,5	0,25-1	5	25	23-27
Cefotaxima	0,06	0,03-0,125	5	28	25-31
Cefoxitina	4	2-8	30	26	23-29
Cefpodoxima	0,5	0,25-1	10	25-26	23-28
Ceftarolina	0,06	0,03-0,125 ³	5	27	24-30
Ceftazidima	0,125-0,25	0,06-0,5	10	26	23-29
Ceftibuten	0,25	0,125-0,5	30	31	27-35
Ceftobiprole	0,06	0,03-0,125 ³	5	28	25-31
Ceftolozana-tazobactam ^{8,9}	0,25	0,125-0,5 ³	30-10	28	24-32
Ceftriaxona	0,06	0,03-0,125	30	32	29-35
Cefuroxima	4	2-8	30	23	20-26
Cloranfenicol	4	2-8	30	24	21-27
Ciprofloxacino	0,008	0,004-0,016	5	35	30-40
Colistina	0,5-1	0,25-2	-	-	-
Doripenem	0,03	0,016-0,06	10	31	27-35
Ertapenem	0,008	0,004-0,016	10	32-33	29-36
Fosfomicina ¹⁰	1	0,5-2 ³	-	-	-
Gentamicina	0,5	0,25-1	10	22-23	19-26
Imipenem	0,125	0,06-0,25	10	29	26-32
Levofloxacino	0,016-0,03	0,008-0,06	5	33	29-37
Mecilina	0,06-0,125	0,03-0,25	10	27	24-30
Meropenem	0,016-0,03	0,008-0,06	10	31	28-34
Moxifloxacino	0,016-0,03	0,008-0,06	5	31-32	28-35
Ácido nalidíxico	2	1-4	30	25	22-28
Netilmicina	-	≤0,5-1	10	21	18-24
Nitrofurantoína	8	4-16	100	20	17-23
Norfloxacino	0,06	0,03-0,125	10	31-32	28-35
Ofloxacino	0,03-0,06	0,016-0,125	5	31	29-33
Pefloxacino	-	-	5	29	26-32
Piperacilina	2	1-4	30	24	21-27
Piperacilina-tazobactam ^{5,8}	2	1-4	30-6	24	21-27
Polimixina B	0,5	0,25-1,0	-	-	-
Ticarcilina-ácido clavulânico ^{4,5}	8	4-16	75-10	27	24-30
Tigeciclina ¹¹	0,125	0,03-0,25	15	23-24	20-27
Tobramicina	0,5	0,25-1	10	22	18-26
Trimetoprim	1	0,5-2	5	24-25	21-28
Sulfametoxazol-trimetoprim ¹²	≤0,5 ²	-	23,75-1,25	26	23-29

***Escherichia coli* ATCC 25922 (NCTC 12241, CIP 76.24, DSM 1103, CCUG 17620, CECT 434)**

1 Calculado pelo EUCAST.

2 Da normativa International Standards Organisation, ISO 20776-1: 2006 (com atualizações incluídas no documento M100 mais recente do CLSI), exceto intervalos em negrito/itálico estabelecidos pelo EUCAST.

3 Do documento M100-S26, 2016 do Clinical and Laboratory Standards Institute, exceto intervalos em negrito/itálico estabelecidos pelo EUCAST. Todos os intervalos foram validados pelo EUCAST.

4 Para determinação da CIM, a concentração de ácido clavulânico é fixada em 2 mg/L.

5 *E. coli* ATCC 35218 (cepa produtora de β -lactamase TEM-1) é usada para verificar o componente inibidor (ver controle de qualidade de rotina para discos combinados de β -lactâmico com inibidor de β -lactamase).

6 Ignorar o crescimento que pode aparecer como um fino halo interno em alguns lotes de ágar Mueller-Hinton.

7 Para determinação de CIM, a concentração de sulbactam é fixada em 4 mg/L.

8 Para determinação de CIM, a concentração de tazobactam é fixada em 4 mg/L.

9 *E. coli* ATCC 35218 ou *K. pneumoniae* ATCC 700603 podem ser usadas para verificar o componente inibidor (ver controle de qualidade de rotina para discos combinados de β -lactâmico com inibidor de β -lactamase).

10 A CIM de fosfomicina deve ser determinada na presença de glicose-6-fosfato (25 mg/L no meio para diluição em ágar ou caldo). Siga as instruções do fabricante nos sistemas comerciais.

11 Para determinação da CIM de tigeciclina por microdiluição o meio deve ser preparado fresco no dia do uso.

12 Sulfametoxazol-trimetoprim na proporção 19:1. Os valores de são expressos como concentração de Trimetoprim.

***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (NCTC 12903, CIP 76110, DSM 1117, CCUG 17619, CECT 108)**

Método de Disco-difusão: Ágar Mueller-Hinton, McFarland 0,5, ar, 35±1°C, 18±2h. Leia o limite do halo como o ponto evidenciando ausência de crescimento, visto do fundo da placa contra um fundo escuro, sob luz refletida.

Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (µg)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo ¹	Intervalo ³
Amicacina	2	1-4	30	22	18-26
Aztreonam	4	2-8	30	26	23-29
Cefepima	1-2	0,5-4	30	27	24-30
Ceftazidima	2	1-4	10	24	21-27
Ceftolozana-tazobactam ^{4,5}	0,5	0,25-1 ³	30-10	28	25-31
Ciprofloxacino	0,5	0,25-1	5	29	25-33
Colistina	1-2	0,5-4	-	-	-
Doripenem	0,25	0,125-0,5	10	31-32	28-35
Fosfomicina ⁶	4	2-8 ³	-	-	-
Gentamicina	1	0,5-2	10	20	17-23
Imipenem	2	1-4	10	24	20-28
Levofloxacino	1-2	0,5-4	5	22-23	19-26
Meropenem	0,5	0,25-1	10	30	27-33
Netilmicina	2	0,5-8	10	18	15-21
Piperacilina	2-4	1-8	-	-	-
Piperacilina-tazobactam ^{4,7}	2-4	1-8	30-6	26	23-29
Polimixina B	1,0	0,5-2,0	-	-	-
Ticarclina-ácido clavulânico ^{7,8}	16	8-32	75-10	24	20-28
Tobramicina	0,5	0,25-1	10	23	20-26

7

1 Calculado pelo EUCAST.

2 Da normativa International Standards Organisation, ISO 20776-1: 2006 (com atualizações incluídas no documento M100 mais recente do CLSI), exceto intervalos em negrito/itálico estabelecidos pelo EUCAST.

3 Do documento M100-S26, 2016 do Clinical and Laboratory Standards Institute, exceto intervalos em negrito/itálico estabelecidos pelo EUCAST. Todos os intervalos foram validados pelo EUCAST.

4 Para determinação de CIM, a concentração de tazobactam é fixada em 4 mg/L.

5 *E. coli* ATCC 35218 ou *K. pneumoniae* ATCC 700603 podem ser usadas para verificar o componente inibidor (ver controle de qualidade de rotina para discos combinados de β-lactâmico com inibidor de β-lactamase).

6 A CIM de fosfomicina deve ser determinada na presença de glicose-6-fosfato (25 mg/L no meio para diluição em ágar ou caldo). Siga as instruções do fabricante nos sistemas comerciais.

7 *E. coli* ATCC 35218 (cepa produtora de β-lactamase TEM-1) é utilizada para verificar o componente inibidor (ver controle de qualidade de rotina para discos combinados de β-lactâmico com inibidor de β-lactamase).

8 Para determinação de CIM a concentração de ácido clavulânico é fixada em 2 mg/L.

***Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (NCTC 12973, CIP 103429, DSM 2569, CCUG 15915, CECT 794)**
cepa produtora de β -lactamase (fraca)

Método de Disco-difusão: Ágar Mueller-Hinton, McFarland 0,5, ar, 35±1°C, 18±2h. Leia o limite do halo como o ponto evidenciando ausência de crescimento, visto do fundo da placa contra um fundo escuro, sob luz refletida.

Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (µg)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo ¹	Intervalo ³
Amicacina	2	1-4	30	21	18-24
Ampicilina	-	-	2	18	15-21
Azitromicina	1	0,5-2	-	-	-
Benzilpenicilina	0,5-1	0,25-2	1 U	15	12-18
Cefoxitina	2	1-4	30	27	24-30
Ceftarolina	0,25	0,125-0,5 ⁴	5	27	24-30
Ceftobiprole	0,25-0,5	0,125-1 ⁴	5	25	22-28
Cloranfenicol	4-8	2-16	30	24	20-28
Ciprofloxacino	0,25	0,125-0,5	5	24	21-27
Claritromicina	0,25	0,125-0,5	-	-	-
Clindamicina	0,125	0,06-0,25	2	26	23-29
Dalbavancina ⁵	0,06	0,03-0,125⁴	-	-	-
Daptomicina ⁶	0,25-0,5	0,125-1	-	-	-
Doxiciclina	0,25	0,125-0,5	-	-	-
Eritromicina	0,5	0,25-1	15	26	23-29
Fosfomicina ⁷	1-2	0,5-4 ⁴	-	-	-
Ácido Fusídico	0,125	0,06-0,25	10	29	26-32
Gentamicina	0,25-0,5	0,125-1	10	22	19-25
Levofloxacino	0,125-0,25	0,06-0,5	5	26	23-29
Linezolida	2	1-4	10	24	21-27
Minociclina	0,125-0,25	0,06-0,5	30	26	23-29
Moxifloxacino	0,03-0,06	0,016-0,125	5	28	25-31
Mupirocina	0,125	0,06-0,25	200	34	31-37
Netilmicina	≤0,25 ²	-	10	23	20-26
Nitrofurantoína	16	8-32	100	20	17-23
Norfloxacino	1	0,5-2	10	21	18-24
Ofloxacino	0,25-0,5	0,125-1	5	24	21-27
Oritavancina ⁵	0,03-0,06	0,016-0,125⁴	-	-	-
Quinupristina-dalfopristina	0,5	0,25-1	15	24	21-27
Rifampicina	0,008	0,004-0,016	5	33	30-36
Tedizolida	0,5	0,25-1⁴	-	-	-
Teicoplanina	0,5	0,25-1	-	-	-
Telavancina ⁵	0,06	0,03-0,125	-	-	-
Tetraciclina	0,25-0,5	0,125-1	30	27	23-31
Tigeciclina ⁸	0,06-0,125	0,03-0,25	15	22	19-25
Tobramicina	0,25-0,5	0,125-1	10	23	20-26
Trimetoprim	2	1-4	5	25	22-28
Sulfametoxazol-trimetoprim ⁹	≤0,5 ²	-	1,25-23,75	29	26-32
Vancomicina	1	0,5-2	-	-	-

***Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (NCTC 12973, CIP 103429, DSM 2569, CCUG 15915, CECT 794)**
cepa produtora de β -lactamase (fraca)

1 Calculado pelo EUCAST.

2 Da normativa International Standards Organisation, ISO 20776-1: 2006 (com atualizações incluídas no documento M100 mais recente do CLSI), exceto intervalos em negrito/itálico estabelecidos pelo EUCAST.

3 Estabelecido e validado pelo EUCAST.

4 Do documento M100-S26, 2016 do Clinical e Laboratory Standards Institute e validada pelo EUCAST.

5 As CIMs devem ser determinadas na presença de polissorbato-80 (0,002% no meio para o método de microdiluição em caldo; métodos de diluição em ágar não foram validados). Siga as instruções do fabricante nos sistemas comerciais.

6 As CIMs de daptomicina devem ser determinadas na presença de Ca^{++} (50 mg/L no meio para microdiluição em caldo; métodos de diluição em ágar não foram validados). Siga as instruções do fabricante nos sistemas comerciais.

7 As CIMs de fosfomicina devem ser determinadas na presença de glicose-6-fosfate (25 mg/L no meio para diluição em ágar e em caldo). Siga as instruções do fabricante nos sistemas comerciais.

8 Para determinação da CIM de tigeciclina por microdiluição o meio deve ser preparado fresco no dia do uso.

9 Sulfametoxazol-trimetoprim na proporção 19:1. Os valores de CIM são expressos como concentração de Trimetoprim.

***Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (NCTC 12697, CIP 103214, DSM 2570, CCUG 9997, CECT 795)**

Método de Disco-difusão: Ágar Mueller-Hinton, McFarland 0,5, ar, 35±1°C, 18±2h. Leia o limite do halo como o ponto evidenciando ausência de crescimento, visto do fundo da placa contra um fundo escuro, sob luz refletida.

Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (µg)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo ¹	Intervalo ³
Ampicilina	1	0,5-2	2	18	15-21
Ciprofloxacino	0,5-1	0,25-2	5	22	19-25
Gentamicina	8	4-16	30 ⁴	15	12-18
Imipenem	1	0,5-2	10	27	24-30
Levofloxacino	0,5-1	0,25-2	5	22	19-25
Linezolida	2	1-4	10	22	19-25
Nitrofurantoína	8	4-16	100	21	18-24
Norfloxacino	4	2-8	10	19	16-22
Quinupristina-dalfopristina	4	2-8	15	14	11-17
Estreptomicina	Nota ⁵	Nota ⁵	300 ⁶	17	14-20 ⁸
Teicoplanina	0,5	0,25-1	30	18	15-21
Tigeciclina ⁷	0,06	0,03-0,125	15	23	20-26
Trimetoprim	0,25	0,125-0,5 ⁸	5	28	24-32
Sulfametoxazol-trimetoprim ⁹	≤0,5 ²	-	23,75-1,25	30	26-34
Vancomicina	2	1-4	5	13	10-16

1 Calculado pelo EUCAST.

2 Da normativa International Standards Organisation, ISO 20776-1: 2006 (com atualizações incluídas no documento M100 mais recente do CLSI), exceto intervalos em negrito/itálico estabelecidos pelo EUCAST.

3 Estabelecido e validado pelo EUCAST.

4 Disco para triagem de resistência de alto nível aos aminoglicosídeos em *Enterococcus*.

5 Atualmente não há intervalo de CIM para *E. faecalis* ATCC 29212 e disco de estreptomicina 300 µg.

6 Disco para triagem de resistência de alto nível à estreptomicina em *Enterococcus*.

7 Para determinação da CIM de tigeciclina por microdiluição o meio deve ser preparado fresco no dia do uso.

8 Do documento M100-S26, 2016 do Clinical and Laboratory Standards Institute.

9 Sulfametoxazol-trimetoprim na proporção 19:1. Os valores de CIM são expressos como concentração de Trimetoprim.

Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 (NCTC 12977, CIP 104340, DSM 11967, CCUG 33638) cepa com sensibilidade reduzida à benzilpenicilina

* Halos de inibição de *S. pneumoniae* no MH-F são quase sempre acompanhados de α -hemólise. Ler a inibição do crescimento e não inibição da hemólise. Inclinare a placa para facilitar a diferenciação entre crescimento e hemólise. Usualmente há crescimento em toda a área de α -hemólise, mas em alguns lotes de MH-F há uma α -hemólise adicional sem crescimento.

Método de disco-difusão: ágar Mueller-Hinton + 5% sangue desfibrinado de cavalo e 20 mg/L β -NAD, McFarland 0,5, 5% CO₂, 35±1°C, 18±2h. Ler as bordas dos halos de inibição como o ponto sem crescimento visto da parte anterior da placa com a tampa removida e luz refletida.

Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (μ g)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo ¹	Intervalo ³
Amoxicilina	0,06	0,03-0,125	-	-	-
Ampicilina	0,125	0,06-0,25	2	28	25-31
Azitromicina	0,125	0,06-0,25	-	-	-
Benzilpenicilina	0,5	0,25-1	1 U	19	16-22
Cefaclor	2	1-4	30	28	25-31
Cefepima	0,06-0,125	0,03-0,25	30	34	31-37
Cefotaxima	0,06	0,03-0,125	5	31	28-34
Cefpodoxima	0,06	0,03-0,125	10	32	29-35
Ceftarolina	0,016	0,008-0,03 ⁴	-	-	-
Ceftobiprole	0,016	0,004-0,03 ⁴	-	-	-
Ceftriaxona	0,06	0,03-0,125	30	35	32-38
Cefuroxima	0,5	0,25-1	30	31	28-34
Cloranfenicol	4	2-8	30	27	24-30
Ciprofloxacino	-	-	5	25	22-28
Claritromicina	0,06	0,03-0,125	-	-	-
Clindamicina	0,06	0,03-0,125	2	25	22-28
Dalbavancina ⁵	0,016	0,008-0,03 ⁴	-	-	-
Daptomicina ⁶	0,125-0,25	0,06-0,5	-	-	-
Doripenem	0,06	0,03-0,125	10	34	31-37
Doxiciclina	0,03-0,06	0,016-0,125	-	-	-
Ertapenem	0,06-0,125	0,03-0,25	10	31	28-34
Eritromicina	0,06	0,03-0,125	15	29	26-32
Imipenem	0,06	0,03-0,125	10	38	34-42
Levofloxacino	1	0,5-2	5	24	21-27
Linezolida	0,5-1	0,25-2	10	26	23-29
Meropenem	0,125	0,06-0,25	10	34	30-38
Minociclina	-	-	30	28	25-31
Moxifloxacino	0,125	0,06-0,25	5	27	24-30
Nitrofurantoina	8	4-16	100	28	25-31
Norfloxacino	4	2-8	10	21	18-24
Ofloxacino	2	1-4	5	21	18-24
Oritavancina ⁵	0,002	0,001-0,004 ⁴	-	-	-
Oxacilina ⁷	-	-	1	11	8-14 7
Rifampicina	0,03	0,016-0,06	5	29	26-32
Tedizolida	0,25	0,125-0,5 ⁴	-	-	-
Teicoplanina	-	-	30	21	18-24
Telitromicina	0,008-0,016	0,004-0,03	15	30	27-33
Tetraciclina	0,125-0,25	0,06-0,5	30	31	28-34
Tigeciclina ⁸	0,03-0,06	0,016-0,125	15	27	24-30
Sulfametoxazol-trimetoprim ⁹	0,25-0,5	0,125-1	23,75-1,25	22	18-26
Vancomicina	0,25	0,125-0,5	5	20	17-23

***Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619* (NCTC 12977, CIP 104340, DSM 11967, CCUG 33638)** cepa com sensibilidade reduzida à benzilpenicilina

1 Calculado pelo EUCAST.

2 Da normativa International Standards Organisation, ISO 20776-1: 2006 (com atualizações incluídas no documento M100 mais recente do CLSI), exceto intervalos em negrito/itálico estabelecidos pelo EUCAST.

3 Estabelecido e validado pelo EUCAST.

4 Do documento M100-S26, 2016 do Clinical e Laboratory Standards Institute e validada pelo EUCAST.

5 As CIMs devem ser determinadas na presença de polissorbato-80 (0,002% no meio para o método de microdiluição em caldo; métodos de diluição em ágar não foram validados). Siga as instruções do fabricante nos sistemas comerciais.

6 As CIMs de daptomicina devem ser determinadas na presença de Ca^{++} (50 mg/L no meio para microdiluição em caldo; métodos de diluição em ágar não foram validados). Siga as instruções do fabricante nos sistemas comerciais.

7 *S. aureus* ATCC 29213 pode ser utilizado para controle de qualidade do disco de oxacilina de 1 µg com alvo de 22 mm e intervalo de 19-25 mm (de acordo com a metodologia de disco-difusão para *S. aureus*).

8 Para determinação da CIM de tigeciclina por microdiluição o meio deve ser preparado fresco no dia do uso.

9 Sulfametoxazol-trimetoprim: na proporção 19:1. Os valores de são expressos como concentração de Trimetoprim.

***Haemophilus influenzae* ATCC 49766 (NCTC 12975, CIP 103570, DSM 11970, CCUG 29539)**

Método de disco-difusão: ágar Mueller-Hinton + 5% sangue desfibrinado de cavalo e 20 mg/L β -NAD, McFarland 0,5, 5% CO₂, 35±1°C, 18±2h. Ler as bordas dos halos de inibição como o ponto sem crescimento visto da parte anterior da placa com a tampa removida e luz refletida.

Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (μ g)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo	Intervalo
Amoxicilina-ácido clavulânico ^{3,4}	0,25	0,125-0,5	2-1	20	17-23
Amoxicilina	0,25	0,125-0,5	-	-	-
Ampicilina	0,125	0,06-0,25	2	22	19-25
Ampicilina-sulbactam ⁵	0,125	0,06-0,25	-	-	-
Azitromicina	1	0,5-2	-	-	-
Benzilpenicilina	-	-	1 unit	18	15-21
Cefepima	0,06	0,03-0,125	30	33	30-36
Cefixima	0,03	0,016-0,06	5	32	29-35
Cefotaxima	0,008	0,004-0,016	5	33	29-37
Cefpodoxima	0,06	0,03-0,125	10	33	30-36
Ceftarolina	0,008	0,004-0,016	-	-	-
Ceftibuten	0,03	0,016-0,06	30	34	31-37
Ceftriaxona	0,004	0,002-0,008	30	38	34-42
Cefuroxima	0,5	0,25-1 ⁶	30	30	26-34
Cloranfenicol	0,5	0,25-1	30	34	31-37
Ciprofloxacino	0,008	0,004-0,016	5	36	32-40
Claritromicina	8	4-16	-	-	-
Doripenem	0,125	0,06-0,25 ⁶	10	29	26-32
Doxiciclina	0,5	0,25-1	-	-	-
Ertapenem	0,03	0,016-0,06 ⁶	10	30	27-33
Eritromicina	4	2-8	15	13	10-16
Imipenem	0,5	0,25-1 ⁶	10	27	24-30
Levofloxacino	0,016	0,008-0,03	5	35	31-39
Meropenem	0,06	0,03-0,125 ⁶	10	31	27-35
Minociclina	0,25	0,125-0,5	30	29	26-32
Moxifloxacino	0,016	0,008-0,03	5	33	30-36
Ácido nalidíxico	-	-	30	30	27-33
Ofloxacino	0,03	0,016-0,06	5	34	31-37
Rifampicina	0,5	0,25-1	5	24	21-27
Roxitromicina	8	4-16	-	-	-
Telitromicina	2	1-4	15	17	14-20
Tetraciclina	0,5	0,25-1	30	31	28-34
Sulfametoxazol-trimetoprim ⁷	0,03	0,016-0,06	23,75-1,25	31	27-35

1 Calculado pelo EUCAST.

2 Estabelecido e validado pelo EUCAST.

3 Para determinação de CIM, a concentração de ácido clavulânico é fixada em 2 mg/L.

4 *S. aureus* ATCC 29213 (cepa produtora de β -lactamase) é utilizada para verificar o componente inibidor (ver controle de qualidade de rotina para discos combinados de β -lactâmicos com inibidor de β -lactamase).

5 Para determinação de CIM, a concentração de sulbactam é fixada em 4 mg/L.

6 Do documento M100-S26, 2016 do Clinical e Laboratory Standards Institute e validado pelo EUCAST.

7 Sulfametoxazol-trimetoprim na proporção 19:1. Os valores de CIM são expressos como concentração de Trimetoprim.

***Campylobacter jejuni* ATCC 33560 (NCTC 11351, CIP 702, DSM 4688, CCUG 11284)**

Método de disco-difusão: ágar Mueller-Hinton + 5% sangue desfibrinado de cavalo 20 mg/L β-NAD, McFarland 0,5, atmosfera de microaerofilia, 41±1°C, 24h. Ler as bordas dos halos de inibição como o ponto sem crescimento visto da parte anterior da placa com a tampa removida e luz refletida. As placas de MH-F devem ser secadas antes da inoculação para reduzir o *swarming* (a 20- 25°C durante a noite ou a 35°C, com a tampa removida por 15 min).

Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (µg)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo	Intervalo		Alvo ¹	Intervalo ²
Ciprofloxacino	IP	IP	5	38	34-42
Eritromicina	IP	IP	15	31	27-35
Tetraciclina	IP	IP	30	34	30-38

1 Calculado pelo EUCAST.

2 Estabelecido e validado pelo EUCAST. IP = Em preparação

Controle do componente inibidor dos discos combinados de β -lactâmico com inibidor de β -lactamase

Método de Disco-difusão: Ágar Mueller-Hinton, McFarland 0,5, ar, 35±1°C, 18±2h. Leia o limite do halo como o ponto evidenciando ausência de crescimento, visto do fundo da placa contra um fundo escuro, sob luz refletida.

***Escherichia coli* ATCC 35218 (NCTC 11954, CIP 102181, DSM 5923, CCUG 30600, CECT 943)**
Cepa produtora de β -lactamase TEM-1 (não-ESBL) utilizada para verificar o componente inibidor dos discos combinados de β -lactâmicos com inibidores de β -lactamase.

Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (μ g)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo ¹	Intervalo ²
Amoxicilina-ácido clavulânico ³	8-16	4-32	20-10	19-20	17-22 ⁴
Ampicilina-sulbactam ⁵	32-64	16-128	10-10	16	13-19 ⁴
Ceftolozana-tazobactam ^{6,7}	0,125	0,06-0,25	30-10	28	25-31
Piperacilina-tazobactam ⁶	1	0,5-2	30-6	24	21-27
Ticarcilina-ácido clavulânico ³	16	8-32	75-10	23	21-25

15

***Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (NCTC 13368, CCUG 45421, CECT 7787)**
produtora de ESBL SHV-18

Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (μ g)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo ¹	Intervalo ²
Ceftolozana-tazobactam ^{6,7}	1	0,5-2	30-10	21	17-25

***Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (NCTC 12973, CIP 103429, DSM 2569, CCUG 15915, CECT 794)**
cepa produtora de β -lactamase (fraca)

Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (μ g)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo ¹	Intervalo ²
Amoxicilina-ácido clavulânico ³	Nota ⁸	Nota ⁸	2-1	22	19-25

1 Calculado pelo EUCAST.

2 Do documento M100-S26, 2016 do Clinical e Laboratory Standards Institute, exceto intervalos em negrito/italico estabelecidos pelo EUCAST. Todos os intervalos foram validados pelo EUCAST.

3 Para determinação de CIM, a concentração de ácido clavulânico é fixada em 2 mg/L.

4 Ignorar o crescimento que pode aparecer como um halo de inibição interno em alguns lotes de ágar Mueller-Hinton.

5 Para determinação de CIM, a concentração de sulbactam é fixada em 4 mg/L.

6 Para determinação de CIM, a concentração de tazobactam é fixada em 4 mg/L.

7 *E. coli* ATCC 35218 ou *K. pneumoniae* ATCC 700603 podem ser utilizadas para verificar o componente inibidor.

8 *E. coli* ATCC 35218 é utilizada para verificar o componente inibidor.

Controle de qualidade estendido para detecção de mecanismos de resistência por disco-difusão

Cepas de controle de qualidade para detecção de mecanismos de resistência por disco-difusão ágar Mueller-Hinton

Método de Disco-difusão: Ágar Mueller-Hinton, McFarland 0,5, ar, 35±1°C, 18±2h. Leia o limite do halo como o ponto evidenciando ausência de crescimento, visto do fundo da placa contra um fundo escuro, sob luz refletida.

Produção de ESBL em *Enterobacteriaceae*

Klebsiella pneumoniae ATCC 700603 (NCTC13368, CCUG 45421, CECT 7787) produtora de ESBL SHV-18

Agente antimicrobiano	Conteúdo do disco (µg)	Alvo ¹	Intervalo ² (mm)	Comentários
Aztreonam	30	R	9-17	
Cefotaxima	5	I or R	12-18	
Cefpodoxima	10	R	9-16	
Ceftazidima	10	I or R	6-12	
Ceftriaxona	30	I or R	16-22	

17

Resistência à oxacilina (metilina) *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus NCTC 12493 (CCUG 67181)

Resistente à oxacilina (metilina) [MRSA], *mecA* positivo

Agente antimicrobiano	Conteúdo do disco (µg)	Alvo ¹	Intervalo ² (mm)	Comentários
Cefoxitina	30	R	14-20	

Resistência aos glicopeptídeos mediada por VanB em *Enterococcus*

Enterococcus faecalis ATCC 51299 (NCTC 13379, CIP 104676, DSM 12956, CCUG 34289) cepa *vanB* positivo

Agente antimicrobiano	Conteúdo do disco (µg)	Alvo ¹	Intervalo ² (mm)	Comentários
Teicoplanina	30	S	16-20	
Vancomicina	5	R	6-12	Examinar as bordas do halo de inibição com luz transmitida (placa contra a luz). Halos de inibição com bordas mal definidas devem ser interpretadas como resistentes, mesmo que o diâmetro do halo de inibição esteja acima do ponto de corte de sensibilidade.

Alto nível aminoglicosídeos resistência em *Enterococcus*

Enterococcus faecalis ATCC 51299 (NCTC 13379, CIP 104676, DSM 12956, CCUG 34289) resistência de alto nível à gentamicina e estreptomina

Agente antimicrobiano	Conteúdo do disco (µg)	Alvo ¹	Intervalo ² (mm)	Comentários
Gentamicina	30	R	6	
Estreptomina	300	R	IP	

1 Alvos de acordo com pontos de corte clínicos do EUCAST e são estabelecidos para garantir que os mecanismos de resistência sejam corretamente detectados. Interpretação de acordo com os pontos de corte clínicos do EUCAST: S=Sensível, I=Intermediário, R=Resistente.

2 Do documento M100-S26, 2016 do Clinical e Laboratory Standards Institute, exceto intervalos em negrito/italico estabelecidos pelo EUCAST. Todos os intervalos os foram validados pelo EUCAST.

IP = Em Preparação

Cepas de controle de qualidade para detecção de mecanismos de resistência por disco-difusão em ágar Mueller-Hinton Fastidious (MH-F)

Método de Disco-difusão: ágar Mueller-Hinton + 5% de sangue desfibrinado de cavalo e 20 mg/L β -NAD, McFarland 0,5, 5% CO₂, 35±1°C, 18±2h. Ler as bordas dos halos de inibição como o ponto sem crescimento visto da parte anterior da placa com a tampa removida e luz refletida.

Sensibilidade reduzida aos agentes β -lactâmicos devido a mutações em PBP em *Haemophilus influenzae*

***Haemophilus influenzae* ATCC 49247 (NCTC 12699, CIP 104604, DSM 9999, CCUG 26214)**

Agente antimicrobiano	Conteúdo do disco (μ g)	Alvo ¹	Intervalo ² (mm)	Comentários
Ampicilina	2	R	6-12	Os diâmetros de halos de inibição são particularmente afetados por variações no meio, inóculo e condições de incubação. Halos de inibição com presença de pequenas colônias em seu interior devem ser interpretados como 6 mm (sem halo).
Benzilpenicilina	1 U	R	6-9	

1 Alvos de acordo com pontos de corte clínicos do EUCAST e são estabelecidos para garantir que os mecanismos de resistência sejam corretamente detectados. Interpretação de acordo com os pontos de corte clínicos do EUCAST: S=Sensível, I=Intermediário, R=Resistente.

2 Estabelecido e validado por múltiplos testes pelo EUCAST.