



# Guia de leitura

Método de disco-difusão para teste de sensibilidade aos  
antimicrobianos do BrCAST- EUCAST

Versão 8.0 do EUCAST  
Janeiro 2021

Versão para português válida a partir de 20/03/2021

# Alterações em relação as versões anteriores (v 7.0)

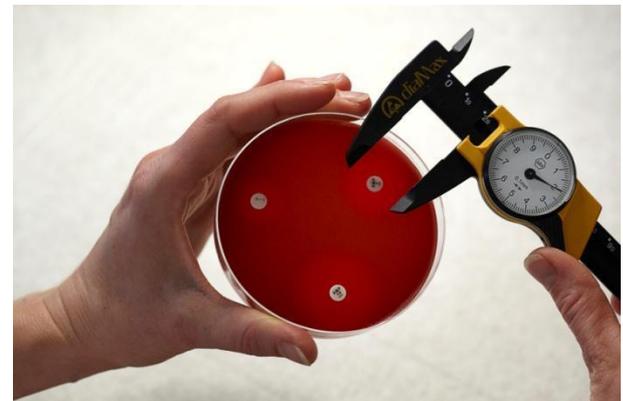
Slide	Alterações
17	Instruções de leitura específicas adicionadas para <i>Enterobacterales</i> e temocilina
22	Novas fotos para <i>B. pseudomallei</i> e sulfametoxazol-trimetoprima
23	Instruções de leitura específicas adicionadas para <i>A. xylosoxidans</i> e sulfametoxazol-trimetoprima (mesmas instruções utilizadas para <i>S. maltophilia</i> e <i>B. pseudomallei</i> ).

# Leitura dos halos de inibição

- As instruções para a leitura dos halos de inibição listadas a seguir fazem parte do método de disco-difusão do BrCAST-EUCAST.
- As bordas dos halos de inibição devem ser lidas no ponto de inibição completa de crescimento bacteriano, avaliada a olho nu, com a placa posicionada a cerca de 30 cm dos olhos (para exceções e instruções de leitura específicas, ver slides 15-26).
- Segurar a placa em um ângulo de 45 graus em relação à bancada para facilitar a leitura quando as bordas dos halos de inibição são difíceis de definir.
- Medir o diâmetro do halo de inibição no milímetro mais próximo utilizando uma régua ou paquímetro. Se um leitor de halos automatizado for utilizado, ele deverá ser calibrado para leitura manual.

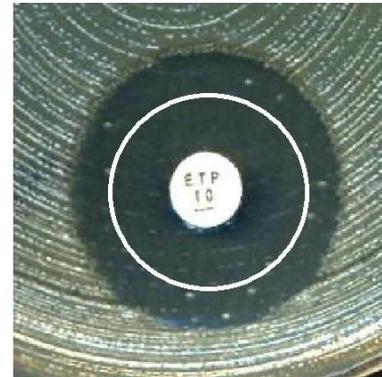
# Leitura dos halos

- Fazer a leitura na parte posterior (fundo) da placa de **MH**, contra fundo escuro, sob luz refletida.
- Fazer a leitura da placa de **MH-F** sem tampa, e observar a superfície que contém os discos, sob luz refletida.



# Colônias dentro do halo de inibição

- Caso haja colônias distintas dentro do halo de inibição, subcultivar as colônias, verificar a pureza do isolado e, se necessário, repetir o teste.
- Se culturas puras, as colônias dentro do halo de inibição devem ser consideradas na leitura do halo.



Ler o halo considerando as colônias que estão dentro do halo.

# Colônias dentro do halo de inibição

- Caso haja colônias distintas dentro do halo de inibição, subcultivar as colônias, verificar a pureza do isolado e, se necessário, repetir o teste.
- Se culturas puras, as colônias dentro do halo de inibição devem ser consideradas na leitura do halo.

*E. coli* com  
ESBL



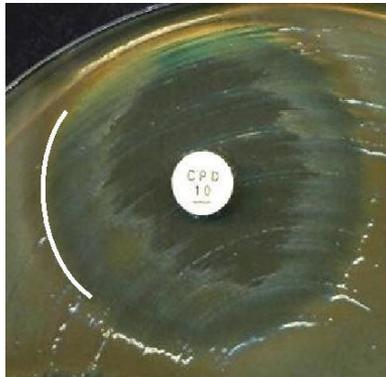
*H. influenzae* com  
mutações em PBP



Ler o halo considerando as colônias dentro do halo.

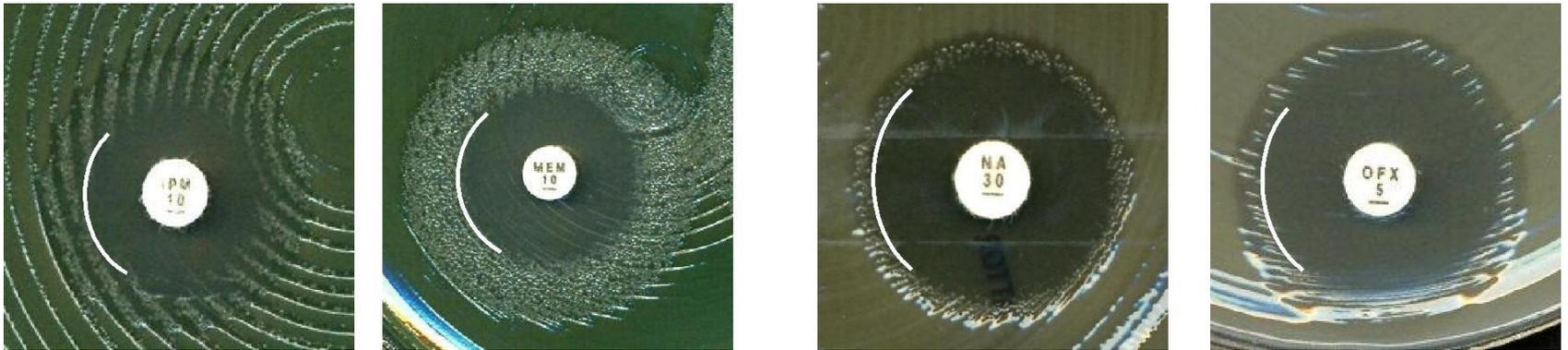
# Swarming

- Ler a inibição do crescimento ignorando o *swarming* (observado mais frequentemente com *Proteus* spp.).



# Halos de inibição duplos

- Na presença de halos duplos, verificar a pureza do isolado e repetir o teste, se necessário.
- Se culturas puras, ler o halo interno de inibição.

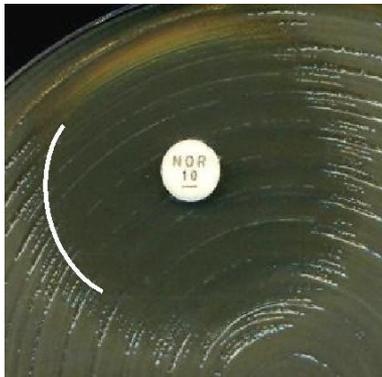


Leitura dos halos de inibição duplos.

# Halo de inibição com bordas difusas/mal definidas

## *Enterobacterales*

- Posicionar a placa contra um fundo escuro a cerca de 30 cm e, a olho nu, estimar a localização da borda do halo de inibição para fazer a leitura. Não segurar a placa contra a luz (luz transmitida) e não usar lente de aumento.

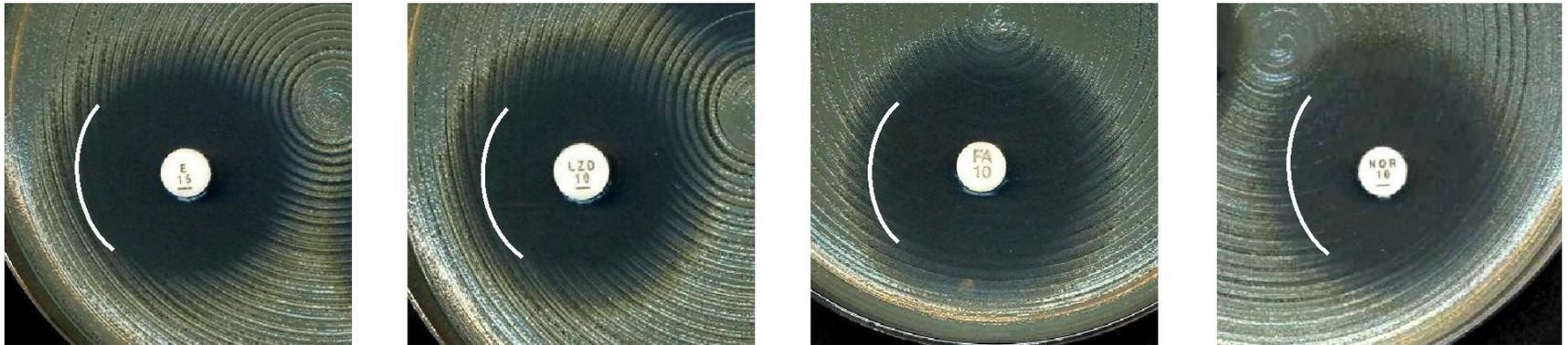


Leitura do halo de inibição com bordas difusas/mal definidas em  
*Enterobacterales*

# Halo de inibição com bordas difusas/mal definidas

## Estafilococos

- Posicionar a placa contra um fundo escuro a cerca de 30 cm e, a olho nu, estimar a localização da borda do halo de inibição para fazer a leitura. Não segurar a placa contra a luz (luz transmitida) e não usar lente de aumento.



Leitura do halo de inibição com bordas difusas/mal definidas em estafilococos.

# Halo de inibição com bordas difusas/mal definidas *S. pneumoniae*

- Quando se faz a leitura do halo de inibição, as pequenas colônias que são visíveis, quando a placa está posicionada a cerca de 30 cm a olho nu devem ser consideradas.
- A presença de pequenas colônias próximas à borda do halo de inibição pode estar relacionada ao excesso de umidade no meio MH-F, podendo ser reduzida com a secagem das placas antes do uso.



Leitura do halo de inibição com bordas difusas/mal definidas em *S. pneumoniae*

# Crescimento ou hemólise?

- Ler a inibição do crescimento e não a inibição ocasionada pela hemólise.
- Às vezes é difícil distinguir entre hemólise e crescimento.
  - As  $\beta$ -hemolisinas se difundem no ágar. A  $\beta$ -hemólise é geralmente livre de crescimento.
  - As  $\alpha$ -hemolisinas não se difundem no ágar. É frequente o crescimento dentro da área de  $\alpha$ -hemólise.
  - As bordas dos halos de inibição acompanhadas de  $\alpha$ -hemólise são mais comuns com *S. pneumoniae* e antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos.

# $\beta$ -hemólise

- Inclinando a placa para frente e para trás para facilitar a diferenciação entre hemólise e crescimento. A  $\beta$ -hemólise é usualmente livre de crescimento.



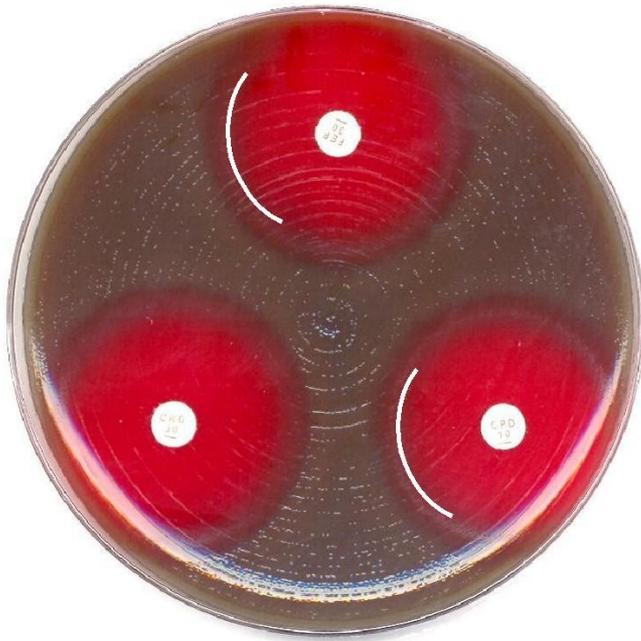
*S. pyogenes*



*Streptococcus* do grupo C

# $\alpha$ -hemólise

- Inclinando a placa para frente e para trás para facilitar a diferenciação entre hemólise e crescimento.



Usualmente há crescimento em toda a área de  $\alpha$ -hemólise.



Para alguns microrganismos, há uma  $\alpha$ -hemólise adicional sem crescimento. Inclinando a placa para diferenciar hemólise de crescimento.

# Instruções para leituras específicas

- *Enterobacterales* com ampicilina, ampicilina-sulbactam e amoxicilina-ác. clavulânico
- *Enterobacterales* e temocilina
- *Enterobacterales* e mecilinam
- *E. coli* e fosfomicina
- Trimetoprima e sulfametoxazol-trimetoprima em geral
- *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* e *Burkholderia pseudomallei* com sulfametoxazol-trimetoprima
- *Aeromonas* spp. e sulfametoxazol-trimetoprima
- Enterococos e vancomicina
- *S. aureus* e benzilpenicilina
- Detecção de resistência induzível à clindamicina em estafilococos e estreptococos.
- *H. influenzae* e antimicrobianos betalactâmicos

# *Enterobacterales* com ampicilina, ampicilina-sulbactam e amoxicilina-ácido clavulânico

- Ignorar o crescimento discreto que pode aparecer como um halo interno em alguns lotes de ágar Mueller-Hinton. Este crescimento não é visto em alguns lotes de ágar e quando o halo externo é lido não existe nenhuma diferença entre os lotes.



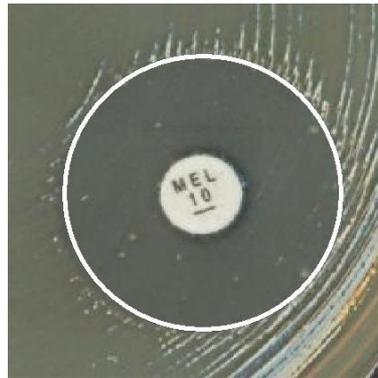
# *Enterobacteriales* e temocilina

- Ignorar colônias isoladas dentro do halo de inibição. Ler a borda externa do halo de inibição.



# *Enterobacterales* e mecilina

- Ignorar colônias isoladas dentro do halo de inibição. Ler a borda externa do halo de inibição.



# *E. coli* e fosfomicina

- Ignorar colônias isoladas dentro do halo de inibição. Ler a borda externa do halo de inibição.



# Trimetoprima e sulfametoxazol-trimetoprima

- Seguir as instruções para a leitura e ler o halo interno quando houver halos duplos de inibição. (Ver exemplos abaixo).
- Ignorar névoa ou crescimento discreto até o disco dentro do halo de inibição e com bordas bem definidas.



*E. coli*



SCoN



*Moraxella*



*Haemophilus*

# *S. maltophilia* com sulfametoxazol-trimetoprima

- Ignorar o crescimento dentro do halo de inibição, se a borda estiver bem definida, mesmo quando o crescimento no interior de halo de inibição seja substancial.
  - Ler a borda externa do halo de inibição e interpretar de acordo com os pontos de corte.
- Se houver crescimento até o disco e nenhum sinal de halo de inibição, reportar como resistente.



Um halo externo de inibição pode ser visualizado



Crescimento próximo ao disco

## *B. pseudomallei* com sulfametoxazol-trimetoprima

- Ignorar o crescimento dentro do halo de inibição, se a borda estiver bem definida, mesmo quando o crescimento no interior de halo de inibição seja substancial.
  - Ler a borda externa do halo de inibição e interpretar de acordo com os pontos de corte.
- Se houver crescimento até o disco e nenhum sinal de halo de inibição, reportar como resistente.



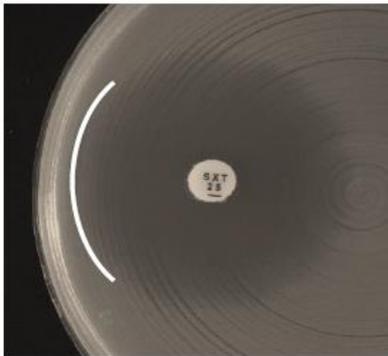
Um halo externo de inibição pode ser visualizado



Crescimento próximo ao disco

# *A. xylosoxidans* com sulfametoxazol-trimetoprima

- Ignorar o crescimento dentro do halo de inibição, se a borda estiver bem definida, mesmo quando o crescimento no interior de halo de inibição seja substancial.
  - Ler a borda externa do halo de inibição e interpretar de acordo com os pontos de corte.
- Se houver crescimento até o disco e nenhum sinal de halo de inibição, reportar como resistente.

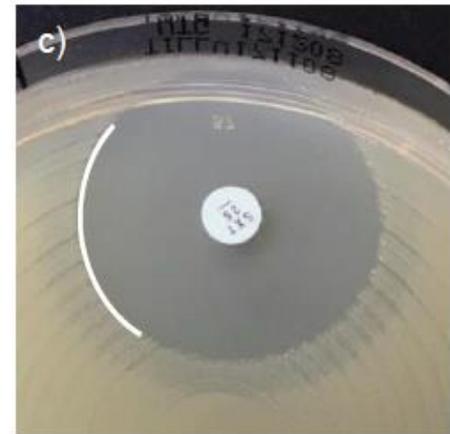
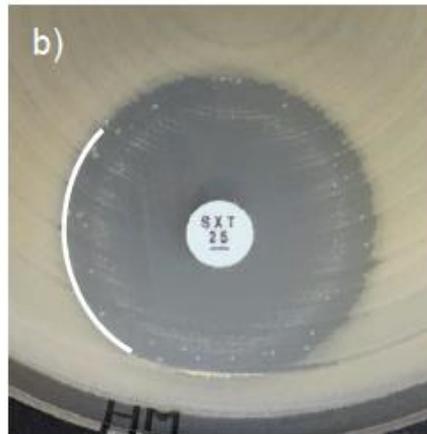
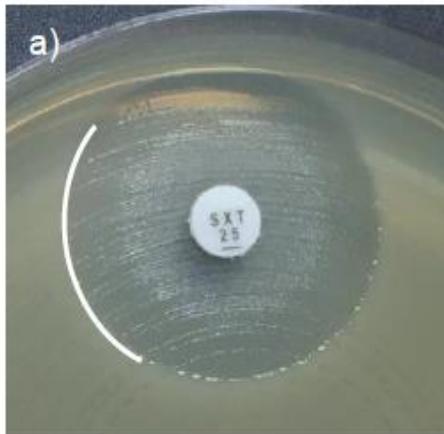


Um halo externo de inibição pode ser visualizado

Crescimento próximo ao disco

# *Aeromonas* spp. e sulfametoxazol-trimetoprima

- Ignorar névoa ou crescimento discreto até o disco, no interior do halo de inibição com bordas bem definidas.
- Se houver um halo interno com borda bem definida, ler este halo como o halo de inibição.

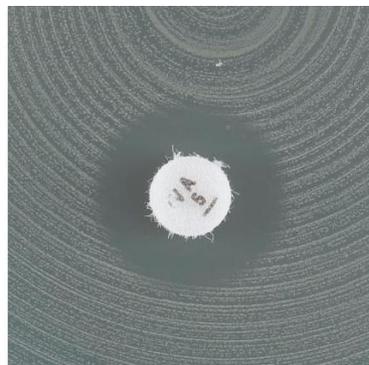


# Enterococos e vancomicina

- Examinar o halo de inibição na parte frontal da placa com luz transmitida (placa posicionada contra a luz).
  - Halos de inibição com bordas bem definidas, reportar como sensível.
  - Halos de inibição com bordas difusas/mal definidas, colônias dentro do halo ou em caso de dúvida na interpretação, suspeitar de VRE e realizar teste confirmatório do isolado, mesmo com halos  $\geq 12$  mm.
  - Não reportar o teste como sensível antes de 24 h de incubação.



não-VRE



VRE

# *S. aureus* e benzilpenicilina

- Examinar as bordas com luz transmitida (com a placa posicionada contra a luz).
  - Para detectar a produção de penicilinase, ler o diâmetro do halo de inibição E examinar cuidadosamente a borda do halo.
  - Se o halo de inibição for  $\geq 26$  mm com borda bem definida, o isolado é produtor de penicilinase; relatar como resistente.
  - Se o halo de inibição for  $\geq 26$  mm E a borda mal definida/difusa; relatar como sensível.



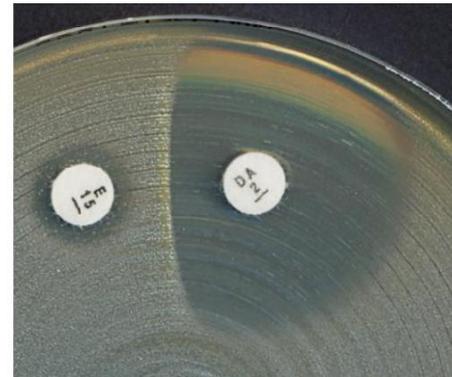
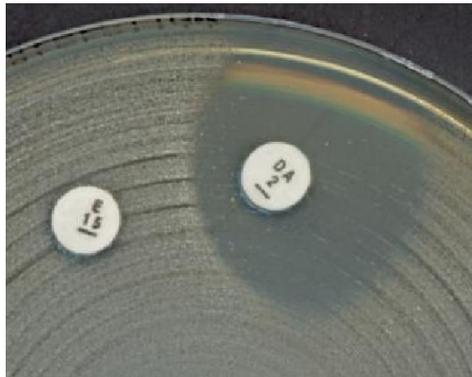
Borda do halo de inibição  $\geq 26$  mm e bem definida = Resistente



Borda de halo de inibição  $\geq 26$  mm e mal definida = Sensível

# Detecção de resistência induzível à clindamicina em estafilococos

- A resistência induzível à clindamicina pode ser detectada pelo antagonismo da atividade da clindamicina e um macrolídeo.
- Posicionar os discos de eritromicina e clindamicina a uma distância de **12-20 mm** entre eles (borda a borda) e observar se há antagonismo (fenômeno D).



Exemplos de fenômeno D em estafilococos.

# Detecção de resistência induzível à clindamicina em estreptococos

- A resistência induzível à clindamicina pode ser detectada pelo antagonismo da atividade da clindamicina e um macrolídeo.
- Posicionar os discos de eritromicina e clindamicina a uma distância de **12-16 mm** entre eles (borda a borda) e observar se há antagonismo (fenômeno D).



Exemplos de fenômeno D em estreptococos

# *H. influenzae* e betalactâmicos

- Para fins de aferição do diâmetro do halo, considerar a borda mais externa do halo de inibição e desconsiderar o crescimento ao redor do disco.



