



Guia de leitura do BrCAST-EUCAST para microdiluição em caldo

Versão 5.0 do EUCAST de janeiro de 2024
Versão BrCAST válida a partir de 01/05/2026

Alterações em relação a versão anterior (4.0)

Slide	Alterações
17	Esclarecimento para desconsiderar a turvação leve na leitura dos pontos de corte para cefiderocol

Microdiluição em caldo

- A microdiluição em caldo é o método de referência para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos de bactérias aeróbias de crescimento rápido, exceto para mecilinam e fosfomicina, onde a diluição em ágar é o método de referência.
- O EUCAST recomenda o teste de acordo com o *International Standard ISO 20776-1*, mas com o uso de caldo MH-F (caldo Mueller-Hinton suplementado com 5% de sangue de cavalo lisado e 20 mg/L de β -NAD, consultar as instruções de preparação em www.brcast.org.br para organismos fastidiosos.
- Os resultados são registrados como a concentração mais baixa do agente antimicrobiano que inibe o crescimento visível de um microrganismo, a Concentração Inibitória Mínima (CIM), expressa em mg/L ou μ g/mL.

Leitura da microdiluição em caldo

Os resultados são válidos apenas quando os seguintes critérios são atendidos:

- Crescimento suficiente, ou seja, botão evidente no fundo do poço ou turbidez bem definida do controle de crescimento positivo.
- Cultura pura
 - Verificar a pureza subcultivando do poço de controle de crescimento, imediatamente após a inoculação em uma placa de ágar não seletivo para incubação simultânea.
- Inóculo correto 5×10^5 UFC/mL
 - A contagem de colônias viáveis pode ser realizada removendo 10 μ L do poço ou tubo de controle de crescimento imediatamente após a inoculação e diluindo em 10 mL de solução salina. Misturar e espalhar 100 μ L em uma placa de ágar não seletivo. Após a incubação, o número de colônias deve ser de 20 a 80 aproximadamente.

Aparência do crescimento

- O crescimento é evidenciado por turbidez ou como um depósito de células no fundo do poço. A aparência do crescimento difere dependendo do microrganismo e do agente antimicrobiano testado.
- Para poços de fundo redondo, o crescimento aparecerá na maioria das vezes como um botão/*pellet* centralizado no meio. Para poços de fundo chato, o crescimento pode ser disperso.
- O crescimento em poços contendo antimicrobianos pode ser diferente do crescimento observado no controle de crescimento positivo, mesmo para culturas puras.

Leitura de pontos finais da CIM

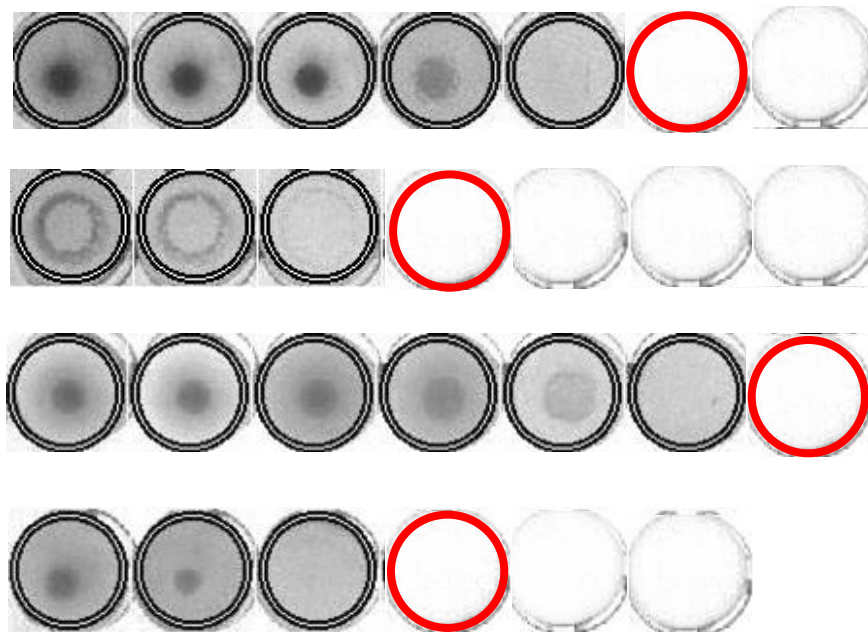
- Os resultados devem ser lidos manualmente. O uso de um espelho pode facilitar a leitura.
- Se for utilizado um leitor automatizado ou um sistema por câmera, este deve ser calibrado com base na leitura manual.
- Ler a CIM como a concentração mais baixa do agente antimicrobiano que inibe completamente o crescimento do microrganismo, detectado a olho nu. Para exceções, consultar os slides 12-18.

Pontos finais com "trailing"/crescimento residual

- A maioria das combinações antimicrobiano-microrganismo fornece pontos finais distintos.
- Algumas combinações de antimicrobiano-microrganismo podem apresentar pontos finais com crescimento residual (*trailing*) caracterizados por um desaparecimento gradual do crescimento ao longo de 2 a 3 poços.
- Salvo indicação em contrário, o ponto final corresponde à menor concentração do antimicrobiano que apresente inibição completa do crescimento (para exceções, consulte os slides 12-16).

Turbidez sem *pellet*

- Turvação ou turbidez sem formação de *pellet* é frequentemente observada em *Pseudomonas* spp. e *Acinetobacter* spp., devendo ser interpretada como crescimento. Nesses casos, o ponto final deve ser lido no primeiro poço com inibição completa (caldo límpido).



Hemólise

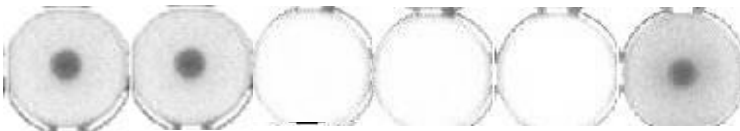
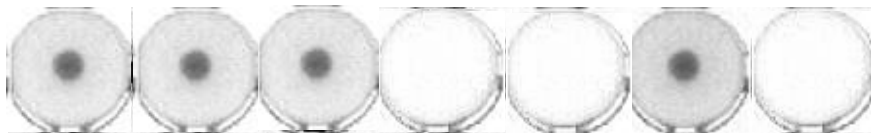
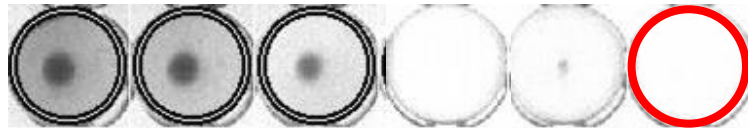
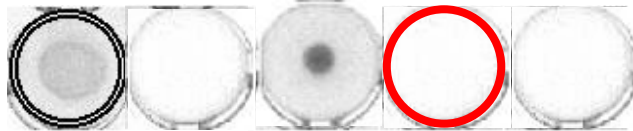
- Pode ser observada hemólise do sangue ao testar microrganismos fastidiosos em caldo MH-F. Isso geralmente é acompanhado por turbidez ou um depósito de crescimento (*pellet*).
- Hemólise com turbidez ou formação de *pellet* deve ser considerada como crescimento ao determinar os pontos finais.



Poços “saltados”

- Ocasionalmente, um salto pode ser visto, ou seja, um poço que não mostra nenhum crescimento delimitado por poços que mostram crescimento. Existem várias explicações possíveis, incluindo inoculação incorreta, contaminação e resistência heterogênea.
- Quando ocorre em um único poço, testar novamente o isolado ou ler o valor da CIM mais alta para evitar relatos de isolados como falsos sensíveis.
- Não relatar resultados de agentes antimicrobianos para os quais há mais de um poço “saltado”.

Exemplos de poços “saltados”



Retestar ou ler o valor da CIM mais alto!

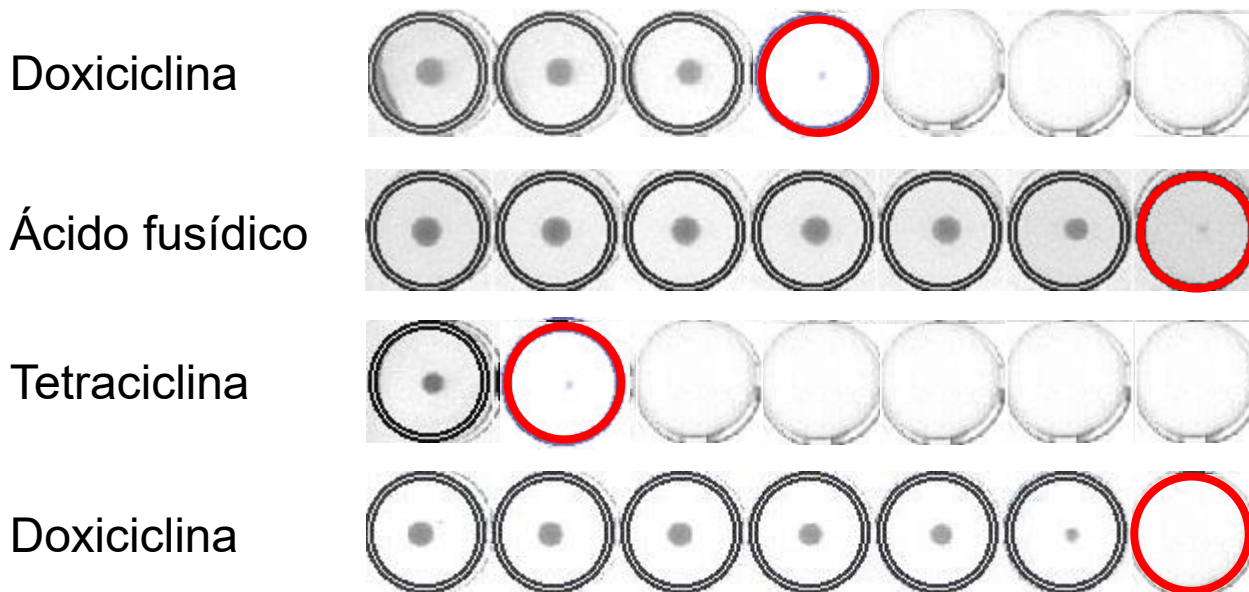
Resultados inválidos!

Instruções específicas de leitura

- Os seguintes agentes antimicrobianos requerem instruções específicas de leitura:
 - Agentes antimicrobianos bacteriostáticos, tanto contra microrganismos gram-positivos quanto gram-negativos
 - Sulfametoxazol-trimetoprima
 - Cefiderocol

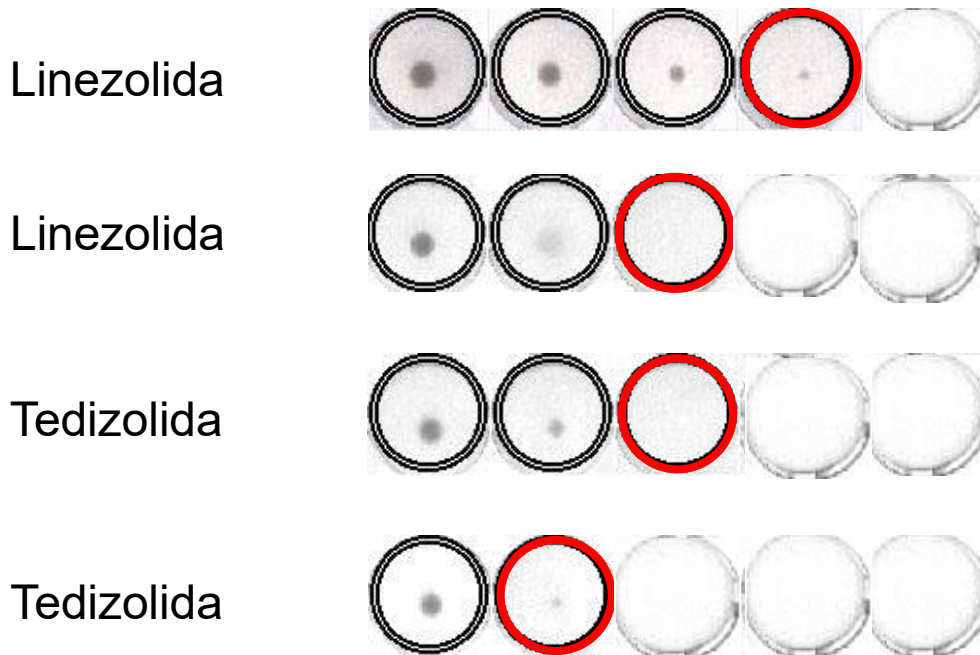
Cocos gram-positivos e agentes antimicrobianos bacteriostáticos

- Desconsiderar o crescimento puntiforme (pequenos botões) quando ocorrer crescimento residual (*trailing*).



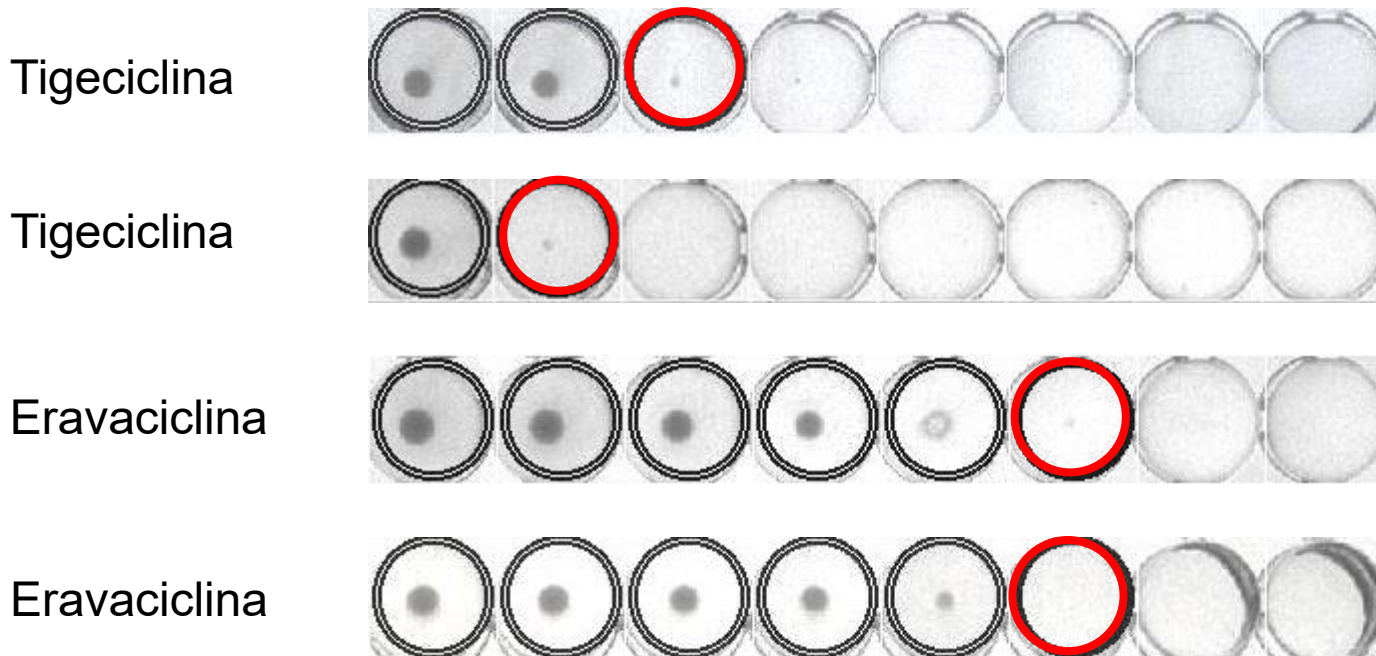
Cocos gram-positivos e agentes antimicrobianos bacteriostáticos

- Desconsiderar o crescimento puntiforme (pequenos botões) quando ocorrer crescimento residual (*trailing*)



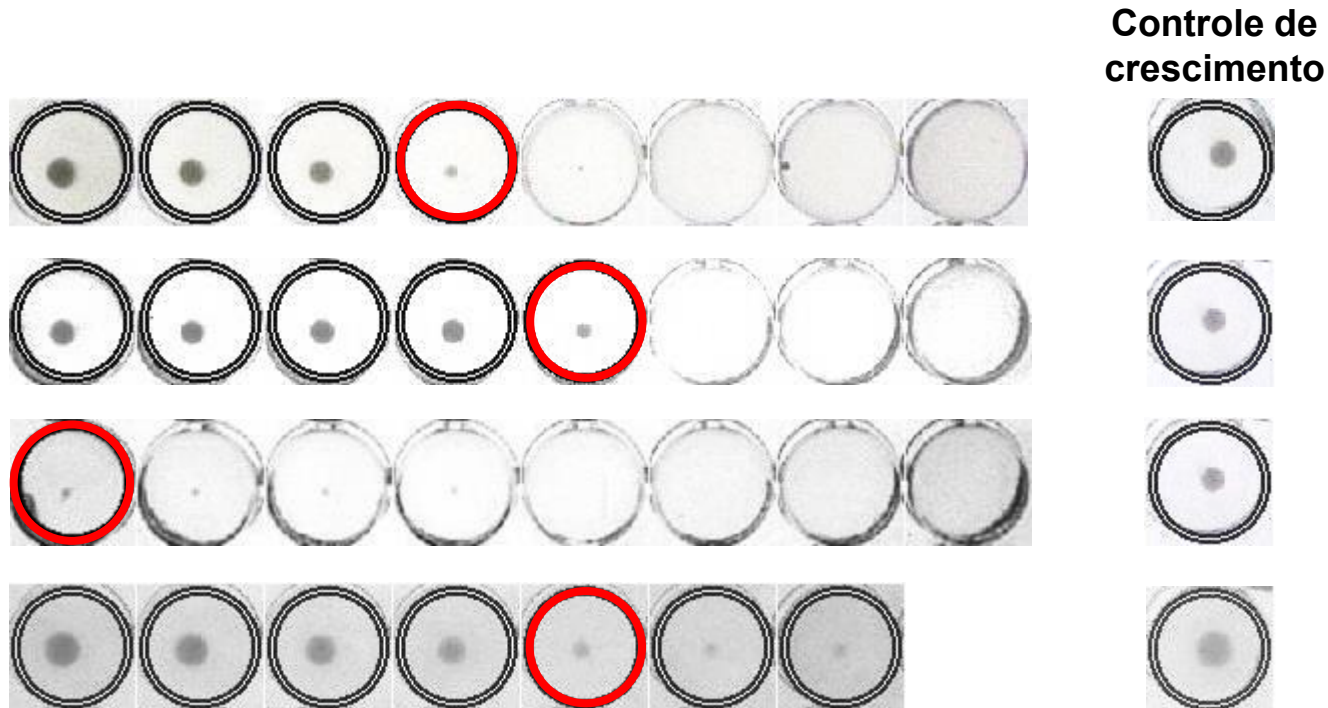
Microrganismos gram-negativos e agentes antimicrobianos bacteriostáticos

- Desconsiderar o crescimento puntiforme (pequenos botões) quando ocorrer crescimento residual (*trailing*)



Sulfametoxazol-trimetoprima

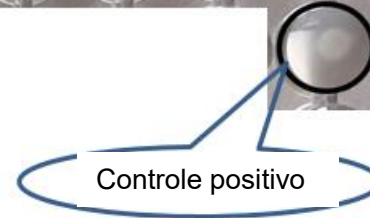
Leia a CIM na menor concentração que inibe $\geq 80\%$ do crescimento em comparação com o controle de crescimento.



Cefiderocol

- A determinação da CIM pela microdiluição em caldo deve ser realizada em caldo Mueller-Hinton sem ferro e as instruções específicas de leitura devem ser seguidas. Para condições do teste, consultar http://www.eucast.org/guidance_documents/.
- A CIM é lida como o primeiro poço em que a redução do crescimento corresponde a um botão <1 mm ou é substituído pela presença de névoa/turvação discreta ($\geq 80\%$ de redução da turvação em comparação com o controle de crescimento)
- O controle positivo deve mostrar forte crescimento na forma de um botão de >2 mm ou forte turbidez.
- Ver o próximo slide que apresenta figuras com exemplos de leitura.

Cefiderocol



Interpretação de resultados

- Certifique-se de que os valores de CIM das cepas relevantes de controle de qualidade estejam dentro dos intervalos aceitáveis antes de relatar os resultados dos isolados clínicos.
- Consultar os critérios de controle de qualidade do BrCAST-EUCAST - Tabelas de CQ (www.brcast.org.br).
- Interpretar os valores de CIM em categorias de sensibilidade (S, I e R) de acordo com as tabelas de pontos de corte BrCAST-EUCAST atuais (www.brcast.org.br).



BrCAST

Brazilian Committee on
Antimicrobial Susceptibility Testing



EUCAST

EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases