



Guia de leitura

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

Versão 10.0 do EUCAST
Janeiro 2023

Versão para em português válida a partir de 15/03/2023

Alterações em relação as versões anteriores (v 9.0)

Slide	Alterações
25	Esclarecimento ao testar <i>Enterococcus</i> spp. e vancomicina com halos de inibição ≥ 12 mm
26	Esclarecimento ao testar <i>S. aureus</i> e benzilpenicilina com halos de inibição ≥ 26 mm

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 15-29).
- 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.

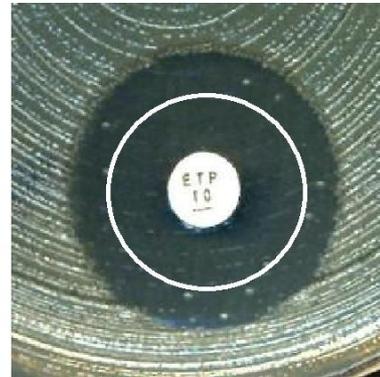
Leitura dos halos

- 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



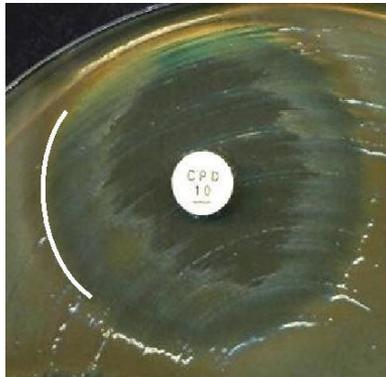
H. influenzae com
mutações em PBP



Ler o halo considerando as colônias dentro do halo.

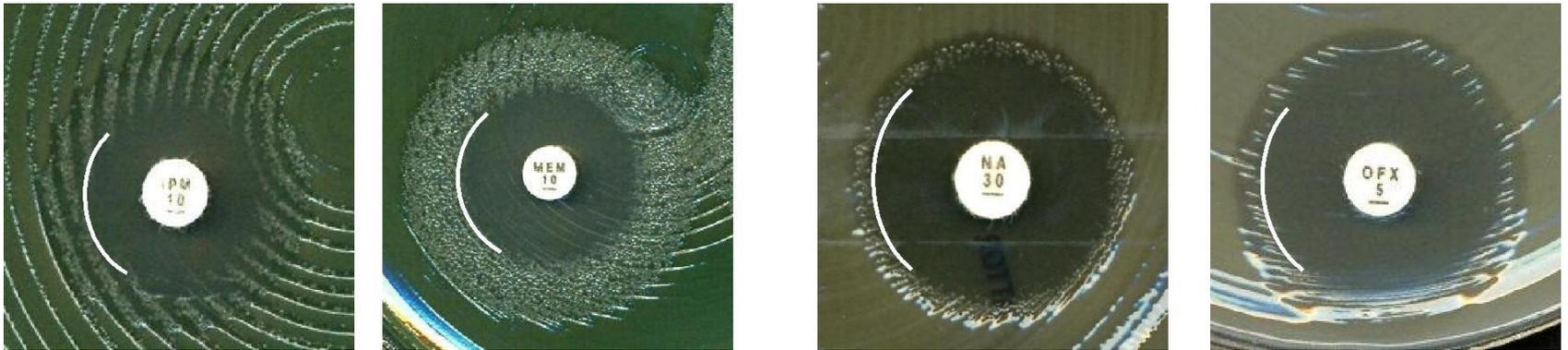
Swarming

- 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.

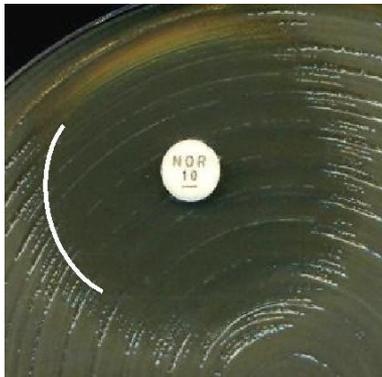


Leitura dos halos de inibição duplos.

Halo de inibição com borda mal definida

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.

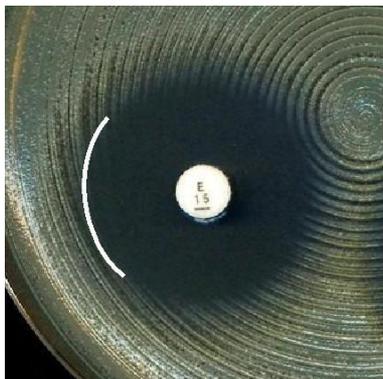


Leitura do halo de inibição com bordas mal definidas em
Enterobacterales

Halo de inibição com borda mal definida

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 mal definidas em estafilococos.

Halo de inibição com borda mal definida *S. pneumoniae*

- Pequenas colônias que são visíveis quando a placa está posicionada a cerca de 30 cm a olho nu e a um ângulo de 45 graus em relação à bancada 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 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 β -hemolisinas se difundem no ágar. A β -hemólise é geralmente livre de crescimento.
 - As α -hemolisinas não se difundem no ágar. É frequente o crescimento dentro da área de α -hemólise.
 - As bordas dos halos de inibição acompanhadas de α -hemólise são mais comuns com *S. pneumoniae* e antimicrobianos β -lactâmicos.

β -hemólise

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



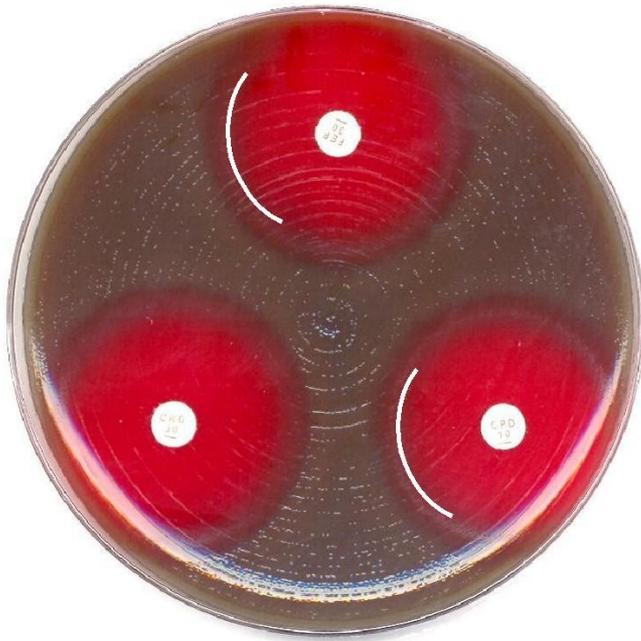
S. pyogenes



Streptococcus do grupo C

α -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 α -hemólise.



Para alguns microrganismos, há uma α -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 MH e quando o halo externo é lido não existe nenhuma diferença entre os lotes.



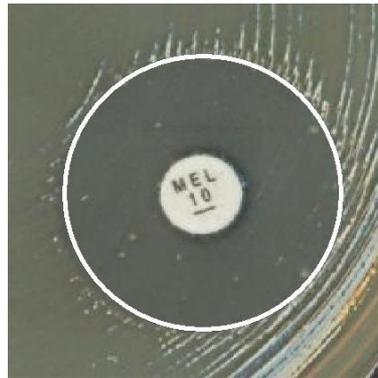
Enterobacterales e temocilina

- 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 e 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 e 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 e 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.



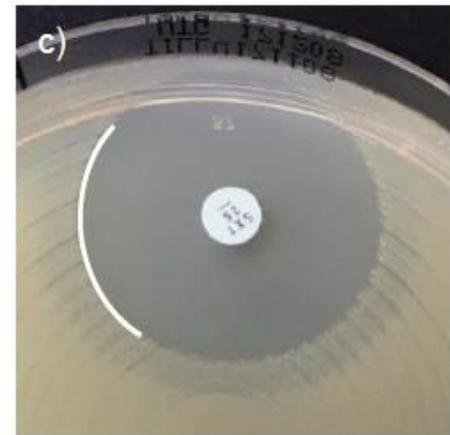
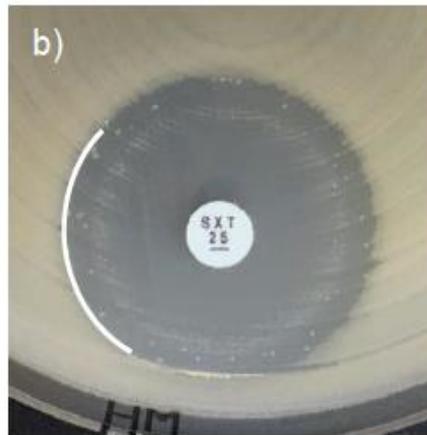
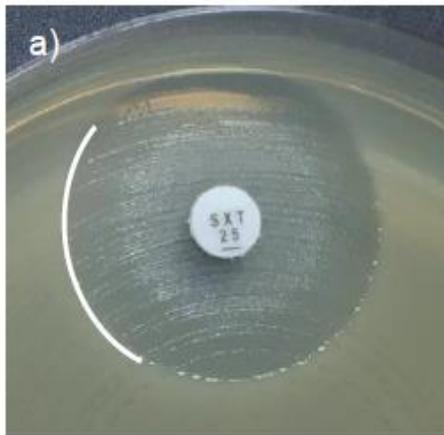
Um halo externo de inibição pode ser visualizado



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

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



não-VRE



VRE

S. aureus e benzilpenicilina

- **Para isolados com diâmetro do halo de inibição ≥ 26 mm:** examinar o halo de inibição, na parte frontal da placa e com luz transmitida (placa posicionada contra a luz).
 - Se o halo de inibição for ≥ 26 mm e com borda bem definida (sem redução do crescimento em direção à borda do halo, como uma “falésia”), o isolado é um produtor de pencillinase. Reportar como resistente.
 - Se o halo de inibição for ≥ 26 mm e a borda mal definida/difusa (redução do crescimento em direção à borda do halo, como uma “praia”), reportar como sensível.



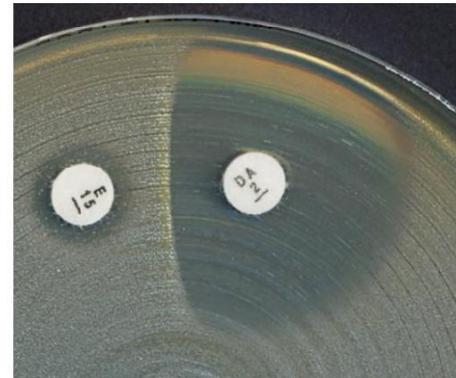
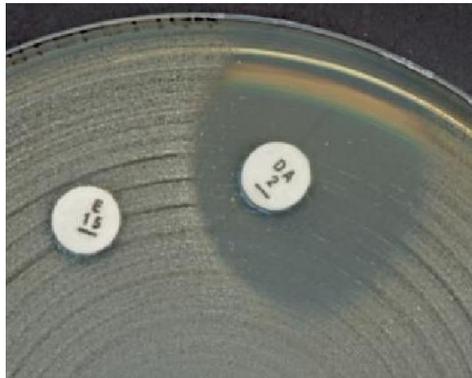
Borda do halo de inibição ≥ 26 mm e bem definida = Resistente



Borda de halo de inibição ≥ 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.



