



CONTROLE DE QUALIDADE DOS TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS (TSA)

Driele de Freitas Peron¹, Mário Renê de Souza²

Resumo

O Teste de Susceptibilidade aos antimicrobianos, comumente conhecido como antibiograma, é uma técnica realizada *in vitro*, empregada em laboratórios, ao qual determina a susceptibilidade bacteriana a antimicrobianos, normalmente utilizando da técnica de Kirby-Bauer ou disco-difusão. O meio de cultura indicado para a realização da técnica é o Ágar Mueller-Hinton (MH), onde é semeada a bactéria e são inseridos os discos de antibiótico. A interpretação deste teste resume-se na medição do halo de inibição formado ao redor do disco, indicando a resistência ou a susceptibilidade aos componentes do disco de acordo com o halo de inibição observado. Devido à importância do conhecimento e execução correta do método, este estudo tem como objetivo geral esclarecer o processo de controle de qualidade dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA), com enfoque no método de disco-difusão e descrever o procedimento correto para a realização do teste. Para tal, serão utilizadas fontes bibliográficas como artigos, textos de livros e bulas oficiais pertinentes ao assunto para a construção de uma revisão de literatura completa. A falta de conhecimento relacionado às técnicas recomendadas, provavelmente, é a maior fonte de erro.

Palavras-chave: Antibiograma. Controle de qualidade. Disco-difusão. TSA. Mueller-Hinton.

Abstract

The Antimicrobial Susceptibility Test, commonly known as antibiogram, is a technique performed *in vitro*, employed in laboratories, which determines the bacterial susceptibility to antimicrobials, usually using the Kirby-Bauer or disc-diffusion technique. The culture medium indicated for the technique is Mueller-Hinton (MH) agar, where the bacteria are seeded and antibiotic disks are inserted. The interpretation of this test is summarized in the measurement of the zone of inhibition formed around the disk, indicating resistance or susceptibility to the components of the disk according to the zone of inhibition observed. Due to the importance of knowledge and correct execution of the method, this study aims to clarify the quality control process of antimicrobial susceptibility testing (ASD), focusing on the disk diffusion method and describe the correct procedure for performing the test. To this end, bibliographic sources such as articles, book texts, and official leaflets pertinent to the subject will be used to construct a comprehensive literature review. The lack of knowledge related to the recommended techniques is probably the biggest source of error.

Keywords: Antibiogram. Quality control. Disc-diffusion. TSA. Mueller-Hinton.

1 Introdução

Um antibiograma é uma técnica *in vitro* utilizada em laboratórios para determinar a susceptibilidade bacteriana a antimicrobianos. Para realizar o processo com eficácia, a Técnica de Kirby e Bauer, também conhecida como disco-difusão em ágar, é a principal metodologia utilizada pela sua confiabilidade, praticidade e baixo custo de execução. Um dos objetivos de um antibiograma

1 Acadêmica do curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR); Endereço para correspondência: drieleperon@gmail.com

2 Docente do curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR). Endereço para correspondência: mario.rene@utp.br



é auxiliar na prescrição do melhor antibiótico para o tratamento de tipos específicos de bactérias já que o exame mostra à qual antibiótico aquele microrganismo tem resistência ou susceptibilidade dentro dos parâmetros terapêuticos (MINNESOTA, 2015; KHAN et al., 2019) .

O controle de qualidade tem como propósito principal apurar e padronizar os processos realizados para confecção de determinado material (GONÇALVES, 2020), ou seja, garante que os procedimentos possam ser realizados e os resultados liberados de forma íntegra e sem erros. Ao decorrer do processo de controle de qualidade os auditores conferem os procedimentos e se atentam a possíveis erros, independentemente de quais sejam, a fim de garantir a qualidade do produto (SANTOS, 2021).

O objetivo deste trabalho é esclarecer o processo de controle de qualidade dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA) com enfoque ao método de disco-difusão, analisar os procedimentos que fazem parte do processo de controle de qualidade dos insumos utilizados, descrever as etapas da montagem correta de um antibiograma na rotina do laboratório de microbiologia, relatar e ilustrar a sementeira utilizada para a confecção de um antibiograma e apresentar, brevemente, as definições do Ágar Mueller-Hinton Sangue e suas cepas padrão para controle.

2 Metodologia

Foi realizada uma revisão de literatura por meio de artigos selecionados em busca eletrônica, no ano de 2022 à 2023, nas bases de dados científicos: PUBMED, SciELO e GOOGLE ACADÊMICO. Foram utilizados artigos científicos, pesquisas, resoluções, e bulas técnicas priorizando os artigos dos últimos 10 anos, porém, incluindo alguns trabalhos relevantes que foram publicados anteriormente a essa data. A pesquisa bibliográfica foi realizada no período de agosto de 2022 a junho de 2023, com as seguintes palavras-chave: “antibiograma”, “disco-difusão”, “Kirby-Bauer”; esses descritores foram utilizados em diferentes combinações.

3 Discussão

Os testes de susceptibilidade aos antimicrobianos (TSA) necessitam de uma boa base de dados para uma execução padronizada, portanto, o processo de controle de qualidade envolve diversas etapas, desde os procedimentos de preparo dos meios de cultura quanto o armazenamento dos discos e, independentemente da etapa em questão, existem diversos erros que podem ser cometidos. A fim de minimizar os erros e gerar produtos com confiabilidade, o TSA deve ser empreendido de acordo com as recomendações dos comitês internacionais especializados: o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) e/ou o *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST). No Brasil, deve-se utilizar as diretrizes contidas no *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST), uma versão do documento EUCAST (BRASIL, 2020).



O teste, que atualmente é conhecido como padrão ouro, foi derivado do teste MIC (*minimum inhibitory concentration*) onde o princípio era a crescimento em gradiente de concentração em meio líquido, da mesma forma que o TSA, mas a concentração mais baixa de um agente antibacteriano expressa em mg/L. O MIC era realizado a partir da macrodiluição em Caldo Mueller-Hinton, sendo esta uma das primeiras técnicas a ser utilizadas, envolve a diluição seriada e logarítmica de um agente microbiano em meio líquido permitindo a visualização da turvação deste meio. O microrganismo será adicionado até o tubo não demonstrar turvação. Para classificar os microrganismos como resistentes a medicamentos, os valores de MIC são comparados com as concentrações de ponto de corte recomendadas padronizadas. Atualmente, o método ainda é utilizado em conjunto com o tema mencionado, porém, de forma aperfeiçoada para melhoria dos resultados expostos (KOWALSKA-KROCHMAL, 2021).

3.1 Método Disco-Difusão

O método desenvolvido por Bauer et al. (1966), comumente conhecido como método Kirby-Bauer, é o mais utilizado em laboratório devido sua simplicidade e objetividade e, além disso, possui baixo custo em relação às demais técnicas. É um método qualitativo que manipula discos de papel-filtro tomado por antibióticos em contato com a bactéria semeada no ágar e, a partir da medição (em milímetros) do halo de inibição formado ao redor do disco, é possível determinar a sensibilidade daquele microrganismo frente ao antimicrobiano do disco utilizado.

Segundo Machado et al., (2019) e Yokomizo et al. (2020), a definição para “antibióticos” refere-se à capacidade de microrganismos produzirem determinadas substâncias que são capazes de atuar como tóxicos seletivos sobre outros microrganismos, ou seja, são capazes de inibir o crescimento ou destruir outros microrganismos. Outrossim, também podem passar por modificações que dão origem a novos antimicrobianos. Para as bactérias de interesse dentro de um laboratório de microbiologia, temos a seguinte relação de classificação (vide tabela 1), desta forma, é possível determinar qual antibiótico é o mais adequado para utilização em cada uma das amostras biológicas disponíveis, sendo necessário realizar a técnica de coloração de gram previamente para identificação da bactéria que será inoculada.

Tabela 1: Classificação dos antimicrobianos segundo o espectro de ação.

Espectro de Ação gram-positivas gram-negativas	Antibióticos/ Quimioterápicos Ativos sobre bactérias penicilinas, macrolídeos Ativos sobre bactérias polimixinas, aminoglicosídeos
Ativos sobre bactérias gram-positivas e gram- negativas (“amplo espectro”) Fonte: Machado et al., 2020, pp.20. Modificado.	cloranfenicol, tetraciclina, ampicilina, cefalosporinas, sulfas, quinolonas



3.1.1 Controle de qualidade dos discos

Segundo a bula disponibilizada pela Laborclin – Produtos para Laboratório LTDA, para garantir a qualidade do produto os discos devem ser testados com cepas padrão ATCC® (American Type Culture Collection). As cepas recomendadas são *Escherichia coli* ATCC 25922®, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213® e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853®. O uso de cepas armazenadas em geladeiras, ou seja, cepas que não são de crescimento, não fornecerão o resultado esperado para um controle, podendo gerar uma falsa sensibilidade ou resistência, acometendo os resultados oficiais. A cada novo lote recebido, o teste de controle deve ser feito em regularidade dentro da rotina. Em caso de resultados alterados, fora do padrão estabelecido pela Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST), implicará em uma revisão dos componentes analíticos.

Os discos são fornecidos em frascos com as unidades e um controlador de umidade, têm de ser armazenados entre -20°C a 8°C ou em freezer logo após seu recebimento e, antes do uso, deixá-los sob temperatura ambiente para que tenham a devida ação antimicrobiana iniciada e não ocorra a condensação da água, o que causaria uma inativação dos compostos, portanto, o indicador de umidade de cada frasco deve ser sempre considerado. Caso o indicador esteja com coloração rosa, deve-se descartar o produto.

Manter o frasco aberto por longos períodos também pode causar inativação. Um erro comumente cometido é a contaminação dos discos, em função disso, ao manipular e retirar um disco do frasco, deve-se utilizar uma pinça e flambá-la antes de inseri-la no recipiente, colocar o disco no ágar, a orientação é posicionar próximo à placa e abrir a pinça, soltando o disco e depois pressioná-lo para fins de fixação, mas sem encostar no ágar e flambar novamente a pinça. Utilizar uma pinça contaminada pode não somente prejudicar o resultado do antibiograma, mas também contaminar os demais discos, sendo necessário então o descarte do material (LABORCLIN, 2020; SEJAS et al, 2003).

3.1.2 Erros de Interpretação dos resultados

Quando se trata de erros humanos relacionados à antibiogramas, o mais comum é o erro de interpretação dos resultados. Dependendo do caso e do agente microbiano incubado, o halo pode apresentar-se de forma diferente ao habitual para outros agentes e, sendo este um dos motivos, o conhecimento das normas técnicas da BrCAST (que dispõe uma média padrão para os halos) deve ser de uso do profissional e sempre que for atualizada na fonte, deve ser atualizada na rotina para conhecimento dos profissionais que atuam no local. Para a leitura, deve-se examinar a placa no sentido contrário à luz para uma visualização clara, permitindo assim verificar se existe um halo límpido e bem definido ou se possui crescimento de colônias bacterianas dentro deste halo (BRASIL, 2020; KHAN et al., 2019).



3.2 Ágar Mueller-Hinton (AMH)

Dentre os meios disponíveis no mercado, o Ágar Mueller-Hinton (AMH) é o mais indicado para a realização de antibiogramas por não ser um meio seletivo. Ele é um meio nutritivo e enriquecido, permitindo um crescimento satisfatório (NCCLS, 2003). Segundo a bula, para fins de transporte, o produto pode permanecer a temperatura ambiente por até 72h. Em laboratório deve-se manter refrigerado até o momento de sua utilização, sendo retirada com antecedência para estabilização de temperatura (LABORCLIN, 2019).

Além disso, o AMH não é recomendado para microrganismos fastidiosos. Em caso de necessidade, outro meio de cultivo deve ser escolhido para garantir um resultado correto, como os exemplos, segundo Yokomizo, *et al.* (2020) e Oliveira, *et al.* (2017): Ágar HTM, Ágar GC ou Ágar Müeller Hinton sangue. Um exemplo de bactéria fastidiosa que pode ser feito o antibiograma, desde que nas condições corretas, é a *H. pylori* (SMITH *et al.*, 2014).

O ágar deve ser mantido refrigerado e só retirado para estabilizar a temperatura momentos antes do uso. O processo de refrigerar/estabilizar não é recomendado pois pode danificar o meio desidratando e contaminando. A água que pode vir a condensar não influenciará no resultado do antibiograma em si, porém, caso resseque, reduzirá sua espessura e o meio não estará nas condições estipuladas, deverá ser passado na autoclave conforme instruções do fabricante e descartado pois não está mais apto ao uso (LABORCLIN, 2019).

3.2.1 Fabricação das placas e controle de qualidade.

O processo de montagem/fabricação das placas, segundo a mesma fonte citada acima, consiste em: No banho maria, ferver a água e desligá-la, levar o frasco contendo a solução para que ocorra a liquefação do conteúdo e despejar o conteúdo nas placas com uma espessura de 3 mm a 5 mm. Realizar o processo de qualidade, armazenar e utilizar de acordo com as instruções do fabricante. O controle de qualidade deve ser realizado com a medição da espessura/altura do meio, estando entre 4,0 mm a 5,0 mm e, com o auxílio de um *pHmetro*, certificar que o pH esteja dentro da faixa ideal para crescimento bacteriano, entre 7,1 e 7,5. O teste deve ser efetuado a cada novo lote ou de acordo com a rotina do laboratório como verificação periódica.

3.2.2 Ágar Mueller-Hinton Sangue (AMHS)

Semelhante ao Ágar Mueller-Hinton habitualmente utilizado, o Ágar Mueller-Hinton Sangue (AMHS) tem a mesma finalidade de determinação da susceptibilidade de microrganismos através do método disco-difusão, porém, a diferença está no tipo de bactéria inoculado. Neste ágar, a indicação é utilizar para crescimento de organismos fastidiosos incluindo *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus spp*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus* do grupo *viridans*, *Streptococcus* dos



grupos A, B, C e G, *Listeria monocytogenes*, entre outros. Sua composição é, em suma, a base do AMH suplementado com 5% de sangue de cavalo desfibrinado (ou sangue de ovelha) e 20mg/L de β -NAD, possuindo baixos níveis de timina e timidina, com cátions ajustados, o que permite resultados mais precisos, evitando falsos resultados de Sensibilidade ou Resistência. O modo de utilização e o processo de controle de qualidade deste meio segue as mesmas regras do ágar Mueller-Hinton tradicional, tendo pequena variação no nível do pH (7,2 a 7,4) e das cepas padrão que, para tal serão: *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619, *Haemophilus influenzae* ATCC® 49766 e *Campylobacter jejuni* ATCC® 33560 (LABORCLIN, 2019; LABORCLIN, 2022).

3.3 Procedimento: Disco-Difusão

A qualidade do procedimento depende, não somente, dos insumos, mas também da montagem e leitura de resultados sendo feita de forma eficaz. Portanto, a padronização da execução dos testes de susceptibilidade é tão importante quando o controle de qualidade técnico dos produtos a serem utilizados para iniciar o procedimento, o profissional deve preparar seus equipamentos e local de trabalho. Retirar os discos e as placas da geladeira com antecedência conforme instruções de uso do fabricante e identificar a placa de acordo com a rotina de cada laboratório, geralmente usa-se as informações do paciente da mesma forma que mostra no laudo para facilitar a identificação dele. Para que o procedimento ocorra corretamente, deve-se isolar colônias e utilizar apenas um microrganismo por placa, a fim de evitar contaminação por outros grupos de bactérias (YOKOMIZO, 2020).

3.3.1 Inoculação

Segundo as diretrizes da ANVISA, a primeira etapa para que o procedimento seja realizado corretamente é fazer a inoculação da bactéria em meio estéril, caso seja inoculada em excesso pode gerar um resultado de “falsa resistência” e, caso seja utilizada pouca quantidade de bactéria, não terá crescimento. Com o auxílio de uma alça bacteriológica, coletar uma colônia e realizar a suspensão em salina estéril (NaCl 0,85%) até atingir a turbidez 0,5 de acordo com a escala de *McFarland* (Figura 1, próxima página), ao qual pode ser vista a olho nu, comparando os tubos (inoculação e escala) ou, caso o profissional prefira, pode ser utilizado um espectrofotômetro, onde a absorbância será de 625 nm, entre 0,08 e 0,13 (BRASIL, 2020).

Ao atingir as predefinições citadas referente à escala de *McFarland*, o profissional deverá iniciar a semeadura. Com o auxílio de um swab (deve estar lacrado para garantir a esterilidade), mergulhar a ponta de algodão até que a suspensão bacteriana o encharque e, para evitar um contato excessivo com a placa, deve-se retirar o excesso do líquido pressionando-o nas laterais do próprio tubo (LABORCLIN, 2019; PUBLIC HEALTH ENGLAND, 2017).

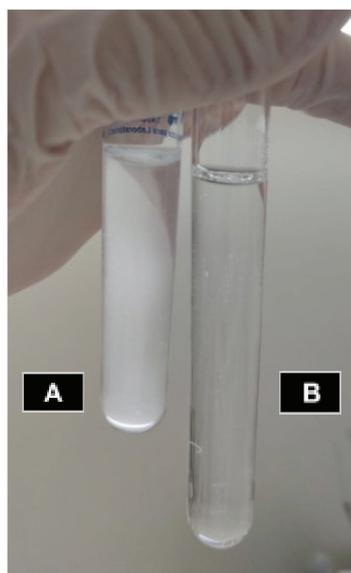


Figura 1. Representação da turbidez de acordo com a escala de McFarland (A) em comparação à salina estéril antes de ser inoculada (B). Fonte: O autor, 2023.

3.3.2 Semeadura

De forma manual, o microbiologista deve dispersar a suspensão preparada no Ágar MH e fazer o esgotamento do *swab* por completo na placa, sendo ela de três a cinco direções. A cada novo ângulo, girar o ágar em torno de 60 graus (Figura 2), desta forma garante o preenchimento da placa com o inóculo fazendo com que pareça um “tapete” após o antibiograma estar finalizado e houver crescimento bacteriológico. Caso seja necessário utilizar mais de uma placa, deve-se molhar um novo *swab* para garantir que o crescimento ocorra como esperado. A utilização do mesmo *swab* não é encorajada. Por já ter sido esgotado anteriormente, não haverá crescimento na nova placa conforme esperado (BRASIL, 2020; PUBLIC HEALTH ENGLAND, 2017).

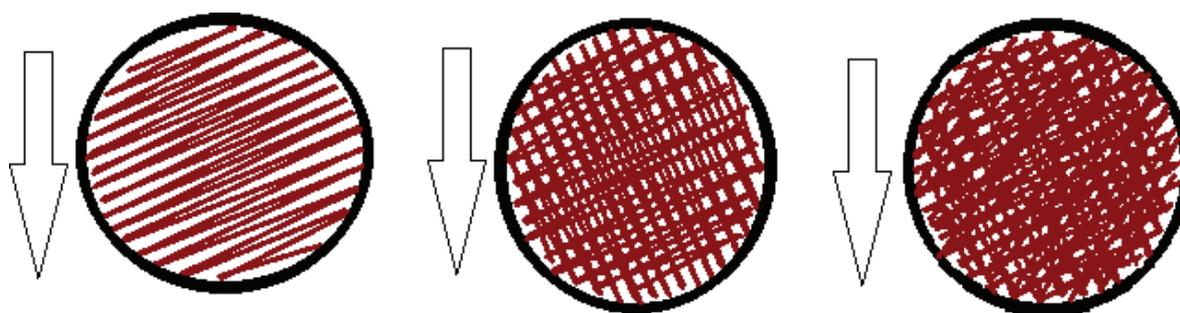


Figura 2. Representação do método de semeadura qualitativa, conhecida como distensão, para realização de teste de susceptibilidade a antimicrobianos realizada em laboratório. Fonte: O autor, 2023.



3.3.3 Aplicação dos discos

Após finalizar a semeadura, deve-se aguardar cerca de 10 a 15 minutos em temperatura ambiente para que o ágar MH absorva os componentes presentes em sua superfície. Tendo aguardado o tempo para absorção, o profissional deve iniciar a colocação dos discos de antibiótico mantendo a regra da quantidade: em caso de placas de 150 mm de diâmetro, colocar, no máximo, 12 discos. Em caso de placas de 90 mm de diâmetro, colocar no máximo 5 discos. Independentemente do tamanho da placa, deve-se manter uma certa distância entre os discos para que um halo não se mescle a outro, ademais, existem discos que possuem posições específicas e devem ser posicionadas de acordo (BRASIL, 2020).

Para acomodar os discos na placa, deve-se utilizar uma pinça devidamente flambada, a fim de evitar a propagação de possíveis microrganismos presentes no material, e resfriada, evitando assim que o contato derreta o disco ou que o calor prejudique a ação antimicrobiana. Soltar o disco sobre a placa e desempenhar leve pressão em cima dele para que fixe corretamente, porém, sem encostar no meio de cultura. O ato de tocar a pinça no meio de cultura e levá-la ao recipiente de discos gera contaminação e resulta no descarte do frasco devido ao contágio. A placa deve ser incubada em estufa durante 24 horas (mínimo de 18 horas), por 36°C. A demora na colocação dos discos na placa é uma das fontes de erros mais comuns nesta etapa, sendo recomendado não ultrapassar 15 minutos para tal (LABORCLIN, 2019).

3.3.4 Leitura e interpretação

Finalizado o tempo de incubação, o profissional deverá iniciar a leitura da placa para a liberação do laudo. Nesta etapa será necessário utilizar uma régua ou um paquímetro, eles servirão para fazer a medição dos halos ao redor dos discos (Figura 3) e, após comparar com a tabela de valores referência para cada antimicrobiano, liberar os achados como *Sensível* (S ou I) ou *Resistente*® (BRASIL, 2020). Em 2017, RAMIREZ publicou uma proposta voltada à medição computadorizada dos halos de inibição. A proposta reduziria consideravelmente as falhas de interpretação, favorecendo os resultados com liberação ainda mais precisa e confiável e, como outro ponto positivo, promoveria o desenvolvimento da tecnologia nacional. Atualmente existem laboratórios que dispõem da automação no setor de microbiologia e os erros humanos em relação à montagem são reduzidos quase por completo, sendo necessário manter a calibragem do equipamento em revisões frequentes e manutenções periódicas, segundo orientação de cada fabricante.

3.4 Antibióticos Utilizados

A qualidade do antibiograma em relação a resultados claros (halos de inibição visíveis com o disco utilizado) têm origem no tipo de antibiótico utilizado relacionado ao tipo de bactéria inoculada.

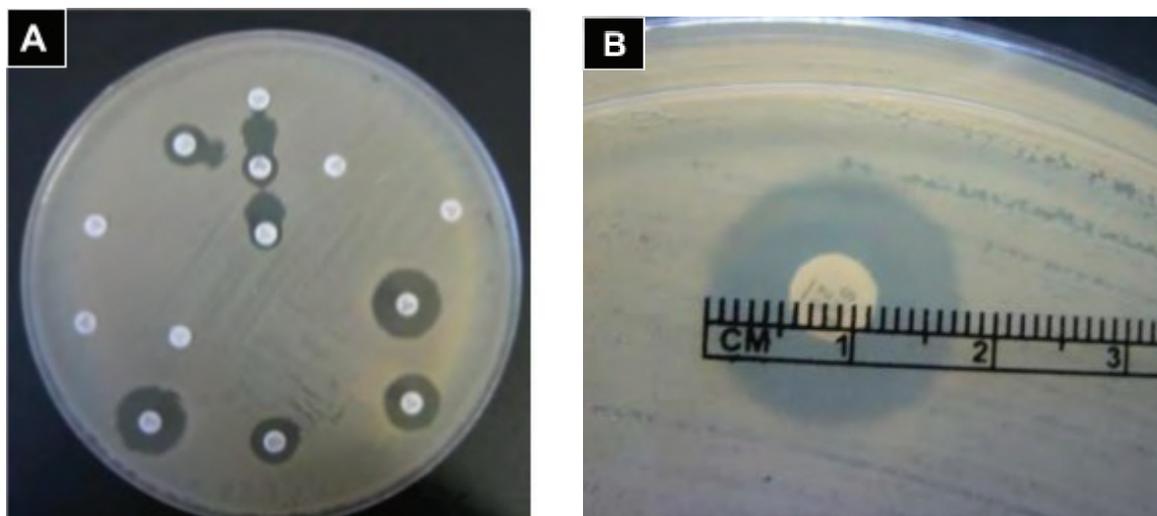


Figura 3. A - Antibiograma finalizado, permitindo a visualização do “tapete” e dos halos ao redor dos discos. B - Exemplificação da medição dos halos de inibição formados. Fonte: BRASIL, 2020.

Muitas bactérias possuem resistência intrínseca a determinados componentes, enquanto isso, outras bactérias adquirem sensibilidade com o tempo, portanto, a escolha correta do antibiótico é de suma importância para eliminar o microrganismo por completo, não somente os sensíveis. Desta forma as bactérias que adquiriram resistência ao medicamento irão se reproduzir e passarão os genes de resistência adquirida para as células-filhas. Atualmente, ao montar o antibiograma manualmente (ocorre na maioria dos laboratórios e laboratório-escola), é possível consultar uma tabela com os medicamentos mais comuns para cada tipo de bactéria e a partir daí, fazer um delineamento mais certo em relação à seleção (YOKOMIZO *et al.*, 2020).

Mantendo o padrão da BrCAST (BRASIL, 2022), para o controle de qualidade dos discos são utilizadas cepas específicas (*Escherichia coli* ATCC 25922®, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213® e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853®) para determinar a precisão dos medicamentos que estão impregnados ali. Portanto, são apresentados valores de referências padrões onde o diâmetro do halo de inibição deve estar dentro do esperado para ser aprovado no controle. Ressalta-se que o teste é feito em organismos não fastidiosos, utilizando o Ágar Mueller-Hinton tradicional, ou seja, sem adição de sangue. Cabe ao microbiologista identificar as cepas e selecionar os antimicrobianos que serão utilizados para que o resultado seja o mais preciso possível, sem demandar de trabalho em excesso, o que comprometeria o tempo do profissional na rotina de laboratório.

Segundo a mesma fonte citada acima, após o tempo de incubação, o microbiologista deverá fazer a análise dos halos de inibição, ou seja, a área ao redor do disco em que não houve crescimento bacteriano, e compará-las com a tabela indicada pela NCCLS para comprovação da veracidade do teste que foi realizado. A repetição do teste de controle de qualidade deve ser feito, pelo menos, uma vez por semana.



Conclusão

A partir desta revisão, é possível perceber que a execução correta da difusão em ágar é algo relativamente simples de desempenhar e sua utilização auxilia na identificação e prescrição correta de antibióticos, prevenindo assim que o paciente faça uso incorreto de fármacos antimicrobianos, devido ao baixo custo, inclusive, é dado como padrão ouro da categoria. Portanto, os erros mais comumente cometidos por profissionais da área são relacionados, provavelmente, à falta de conhecimento empregado às técnicas, podemos nomear de Erro Primário e, por isso, temos os demais erros que envolvem desde montagem, execução até leitura e interpretação. Por este motivo, a partir do momento em que uma determinação de execução e/ou legislação é imposta, deve ser cumprida e praticada para atingir as metas esperadas para a qualidade da técnica. As cepas padrão recomendadas devem ser utilizadas para o controle do meio e dos discos, pois, seu resultado já é conhecido e confirmado, as alterações que podem ocorrer ao realizar o controle de qualidade com o padrão indicam que existem fatores que irão comprometer o resultado dos antibiogramas oficiais.

Referências

- BAUER, A.W., KIRBY, W.M., SHERRIS, J.C., TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology* vol. 45,4: 493-6. 1966.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília/DF: Anvisa, 2020.
- BRASIL. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Antibiograma: Interpretação das zonas de inibição e concentração inibitória mínima. *DME – Diagnósticos Microbiológicos Especializados*, 2022.
- GONÇALVES, K.M. A importância do controle de qualidade no laboratório de análises clínicas: Uma revisão bibliográfica. 33 f. TCC (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.
- KHAN, Z.A., SIDDIQUI, M.F., PARK, S. Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. *Rev. Diagnostics*. 9(2), 49. 2019.
- KOWALSKA-KROCHMAL, B.; DUDEK-WICHER, R. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens*, 10(2):165. 2021.
- LABORCLIN. Ágar Mueller Hinton. Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda. Pinhais-PR. Rev. 10 – 05/2019a. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/documentos/?search_vagas=discos&submit=Enviar>. Acesso em 10 de outubro de 2022.
- LABORCLIN. Discos de Antibiótico. Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda. Pinhais-PR. Rev. 03 – 04/2020. Disponível em: < <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2023/03/640825.pdf>>. Acesso em 18 de abril de 2023.
- LABORCLIN, Mueller Hinton – Fastidioso (MHF) BrCAST. Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda. Pinhais-PR. Rev 03 – 08/2022.LB 172304. Disponível em: <<https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/10/MH-Fastidioso.pdf>>. Acesso em 18 de abril de 2023.



MACHADO, O.V.O.; PATROCÍNIO, M.C.A.; MEDEIROS, M.S.; BANDEIRA, T.J.P.G. Antimicrobianos: Revisão geral para graduandos e generalistas. *Editora do Centro Universitário Christus*. Fortaleza: Edh Unichristus, 2019.

MINNESOTA, Department of Health. About Antibigrams. *Infectious Disease Epidemiology*, Minnesota, 2015.

NCCLS, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. *NCCLS document M2-A8*. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

OLIVEIRA, M.E.F.; ARAÚJO, D.G.; OLIVEIRA, S. R. Resistance of non-fermenting Gram-negative bacilli isolated from blood cultures from an emergency hospital. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 53 (2). Mar-Apr 2017.

PUBLIC HEALTH ENGLAND. UK Standards for Microbiology Investigations: Inoculation of culture media for bacteriology. *Public Health England*, n.2, pp. 9-16. 2017.

RAMIREZ, A.R.G., Automação na medição de halos de antibiogramas. *Pesquisa e prática docente no curso de Engenharia de Controle e Automação da Universidade do Contestado*, pp.66-80, 2017.

RASHEED, M.U., THAJUDDIN, N., AHAMED, P., TEKLEMARIAM, Z., JAMIL, K.; Antimicrobial Drug Resistance in Strains of Escherichia coli isolated from food sources. *Rev. Inst. Med. Trop.* São Paulo 56 (4). Jul-Aug 2014

SANTOS, K.A.; TREVISAN, M. A importância do controle de qualidade nos laboratórios de análises clínicas. *PubSaúde*, 6, a168. 2021.

SEJAS, L.M.; SILBERT, S.; REIS, A.O.; SADER, H. Evaluation of the quality of the antimicrobial agents disks used in disk-diffusion tests commercially available in Brazil. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*[online], v. 39, n. 1, pp. 27-35. 2003

SMITH, S.M., O'MORAIN, C., McNAMARA D. Antimicrobial susceptibility testing for Helicobacter pylori in times of increasing antibiotic resistance. *World J Gastroenterol.* 20(29): 9912–9921. 2014.

YOKOMIZO, C.H.; SOUZA, M.N.; BERTO, M.D.; BALZAN, L.L.R.CORRÊA, T. Bacteriologia clínica. *Editora Sagah*, Porto Alegre/RS, Grupo A, 2020. Un. 1, pág. 15-125 E-book.