

# Controle de qualidade dos testes de sensibilidade

Mg. Paola G. Ceriana  
Serviço Antimicrobianos  
INEI. ANLIS. "Dr. Carlos G. Malbrán"  
LNR e LRR em Resistência aos Antimicrobianos  
WHOCC em Vigilância de Resistência aos Antimicrobianos  
MSAL- OPS/OMS  
pceriana@anlis.gob.ar

TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones  
Unidas para la Alimentación  
y la Agricultura



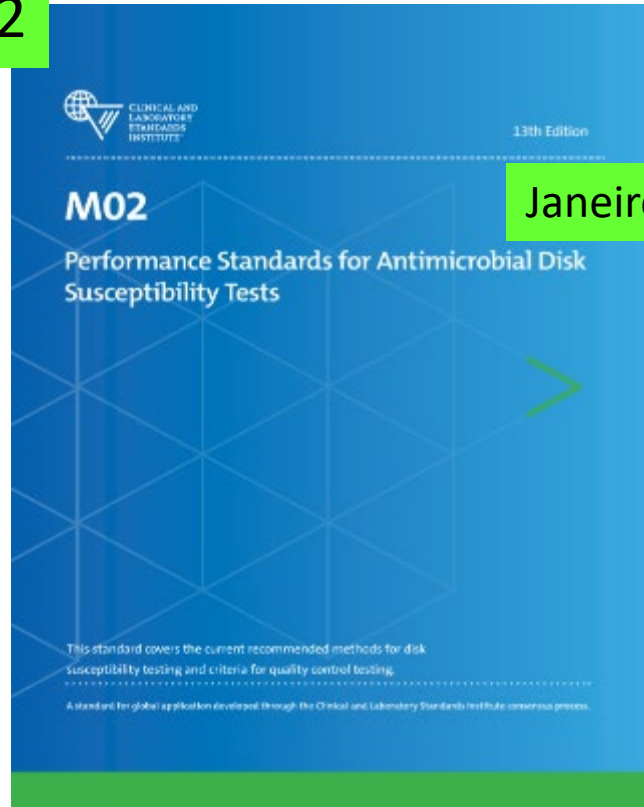
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL  
*Proteger a los animales, preservar nuestro futuro*



Unión Europea

Documento M02. 13ª Edição

M02



Janeiro 2018

Documento M100

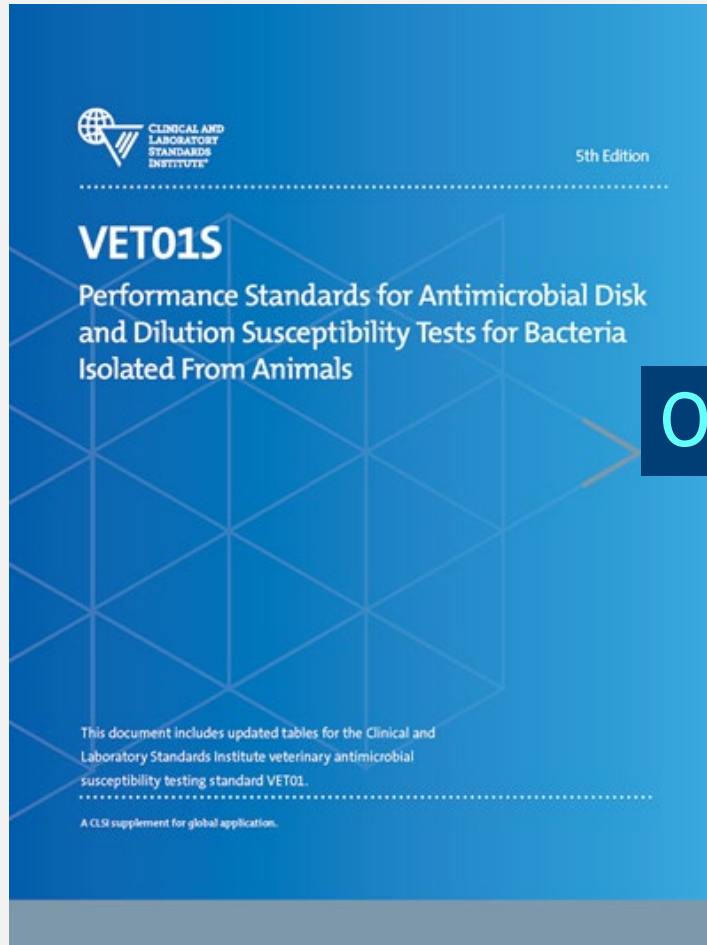
32ª Edição

M100



M100S  
Vigência:  
só  
2022

TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS



Outubro 2020

TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones  
Unidas para la Alimentación  
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL  
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

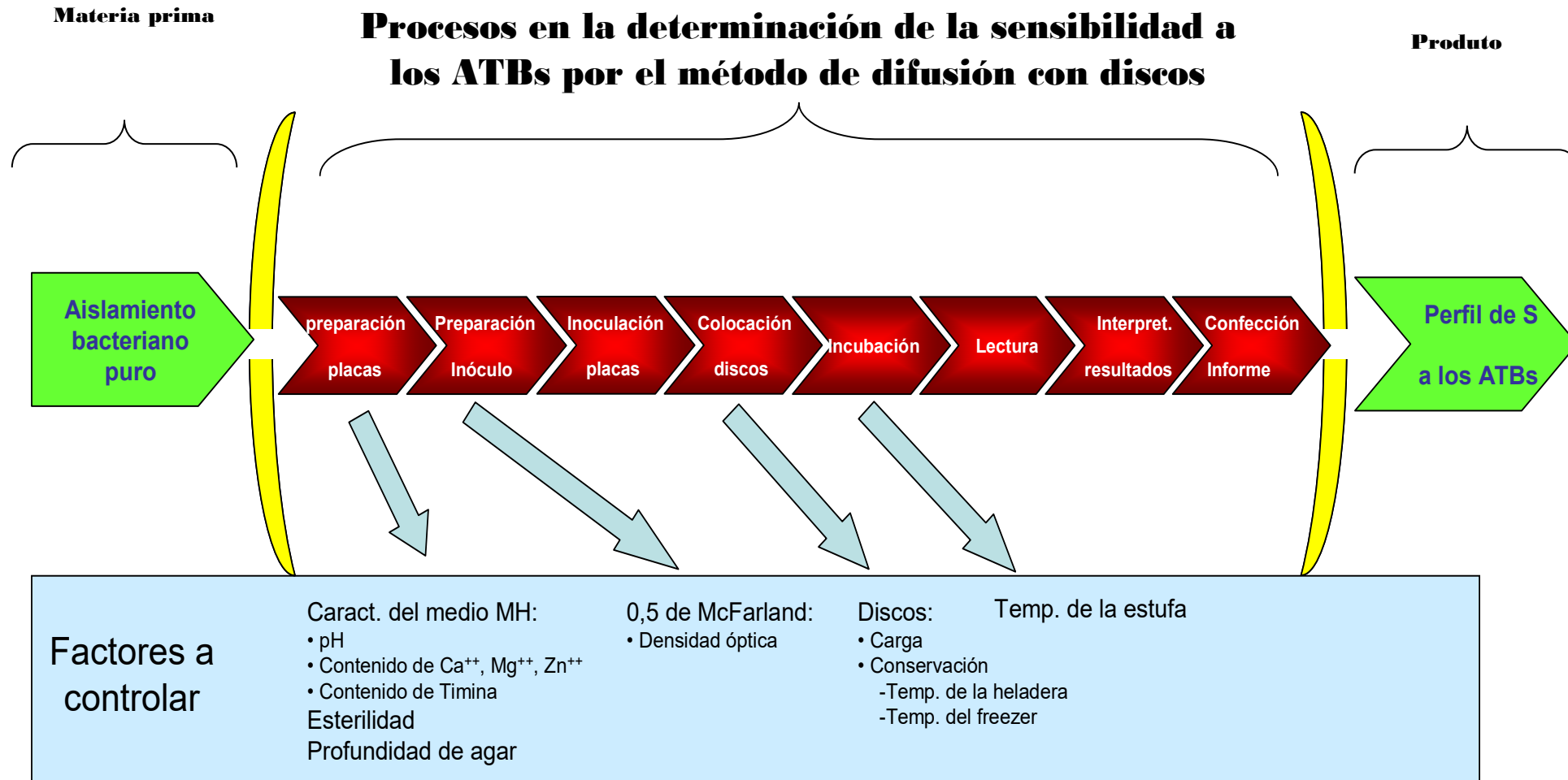
## CONTROLE DE QUALIDADE

Inclui os procedimentos para monitorar o desempenho dos Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos para assegurar resultados exatos e reproduzíveis.

### Objetivo: Monitorar

- Precisão (reprodutibilidade) e Acurácia dos Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos.
- Desempenho dos reativos e equipamentos utilizados no ensaio.
- O desempenho das personas que realizam os ensaios e informam os resultados.

# Rastreabilidad de un teste de sensibilidad por difusión



TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones  
Unidas para la Alimentación  
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL  
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

# CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

## Método de Difusão. Cepas padrões.

### Documentos M02. CLSI 2018 e Documento M100 - Adendo C\*

Cepas para o Controle de Qualidade dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos

\*No Adendo C encontram-se as cepas ATCC e suas características.

**CEPAS de REFERÊNCIA:** São ensaiadas diariamente ou semanalmente para assegurar que os ensaios se desenvolvam corretamente, e os resultados estejam dentro dos limites especificados no documento M100.

*E. coli* ATCC® 25922

*E. coli* ATCC® 35218

*P. aeruginosa* ATCC® 27853

*S. aureus* ATCC® 25923

*E. faecalis* ATCC® 29212

**CEPAS de REFERÊNCIA SUPLEMENTARES:** são utilizadas para ensaiar uma característica particular de um teste. Podem ser cepas alternativas.

*K. pneumoniae* ATCC® 700603

*S. aureus* ATCC® 43300

*E. faecalis* ATCC® 51299

*K. pneumoniae* ATCC® BAA-1705

*K. pneumoniae* ATCC® BAA-1706

*S. aureus* ATCC® BAA-976

*S. aureus* ATCC® BAA-977

TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones  
Unidas para la Alimentación  
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL  
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



# CEPAS QC PARA TESTES DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA

ADENDO C

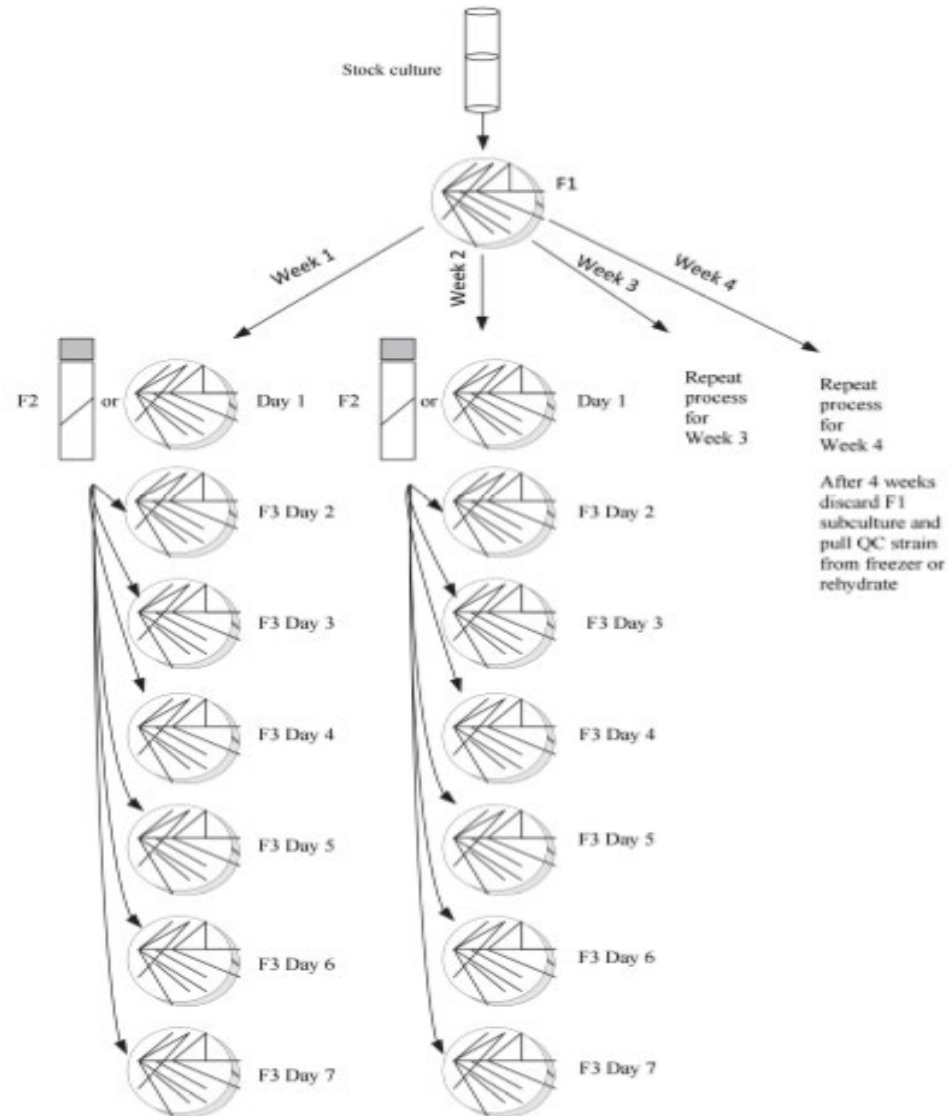
## Appendix C. (Continued)

QC Strains	Organism Characteristics	Disk Diffusion Tests	MIC Tests	Other Tests	Comments
<i>E. faecalis</i> ATCC® 33186					• Alternative to <i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 to assess suitability of MHA for sulfonamide or trimethoprim disk diffusion tests. <sup>d</sup>
<i>E. faecalis</i> ATCC® 51299	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>vanB</i> (vancomycin resistant)</li> <li>• Resistant to high-level aminoglycosides</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vancomycin agar</li> <li>• HLAR tests</li> </ul>	
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta</math>-lactamase negative</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nonfastidious gram-negative bacteria</li> <li>• <i>Neisseria meningitidis</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nonfastidious gram-negative bacteria</li> <li>• <i>N. meningitidis</i></li> </ul>		
<i>E. coli</i> ATCC® 35218 <sup>a,b,1</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TEM-1</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta</math>-lactam combination agents</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta</math>-lactam combination agents</li> </ul>		
<i>E. coli</i> NCTC 13353 <sup>a,b,2</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CTX-M-15 (ESBL)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta</math>-lactam combination agents</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\beta</math>-lactam combination agents</li> </ul>		
<i>E. coli</i> AR Bank #0349 <sup>3</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MCR-1</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colistin broth disk elution</li> <li>• Colistin agar test</li> </ul>	

or Use With M02 and M07

## Appendix C. Quality Control Strain Maintenance

Figure C1 illustrates the workflow for subculturing and using reference strains as described in Subchapter 4.4 of this standard. In Figure C1, “F” indicates the “frozen” or “freeze-dried” state of the stock culture, while “1” indicates the first passage, “2” the second passage, and “3” the third passage from the stock culture.



Abbreviation: QC, quality control.

**Figure C1. Workflow for Subculturing and Using Reference Strains**

M02, 13<sup>th</sup>ed

TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS



# CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGAR MUELLER HINTON.

## COM ELETRODO DE SUPERFÍCIE

## Controle do pH



pH ácido → Menor atividade:

Macrólidos,  
Aminoglicósídeos,  
Quinolonas

pH ácido → Mayor atividade :

Tetraciclinas

C/lote de meio preparado ou comprado

TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS

# CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGAR MUELLER HINTON.

## CONCENTRAÇÃO DE TIMINA (Tm) / TIMIDINA (Td)

Excesso Tm / Td

Falsa Resistência com Sulfas e Trimetoprima

Controle de Tm e Td no meio:

*E. faecalis* ATCC 29212 com SXT :  $\geq 20$  mm

# CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGAR MUELLER HINTON.

## CONCENTRAÇÃO DE CÁTIOS BIVALENTES

$\text{Ca}^{++}$  : 20 -25 mg/l e  $\text{Mg}^{++}$ : 10 - 12.5 mg/l

Excesso  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$  Falsa Resistência

Defeito  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$  Falsa Sensibilidade

*P. aeruginosa* ATCC 27853 com GEN = 17- 23 mm

# CONTROLE DE QUALIDADE DE ÁGAR MUELLER HINTON.

## CONCENTRAÇÃO DE CÁTIOS BIVALENTES

Zn<sup>++</sup>

Afeta: carbapenemas

Excesso                      Falsa Resistência

*P. aeruginosa* ATCC 27853 com IMI = 20- 28 mm

Defeito: erro na detecção de MBL

# CONTROLE DE QUALIDADE. MÉTODO DE DIFUSÃO.

Cálculo do volume da placa

≠ marca de placas ≠ diâmetro

$$\text{Vol} = \pi \cdot r^2 \cdot h$$

$$\text{Vol}_{\text{ágar}} = 3,14 \cdot ?^2 (\text{cm}^2) \cdot 0,4 (\text{cm})$$

? = radio da placa de Petri

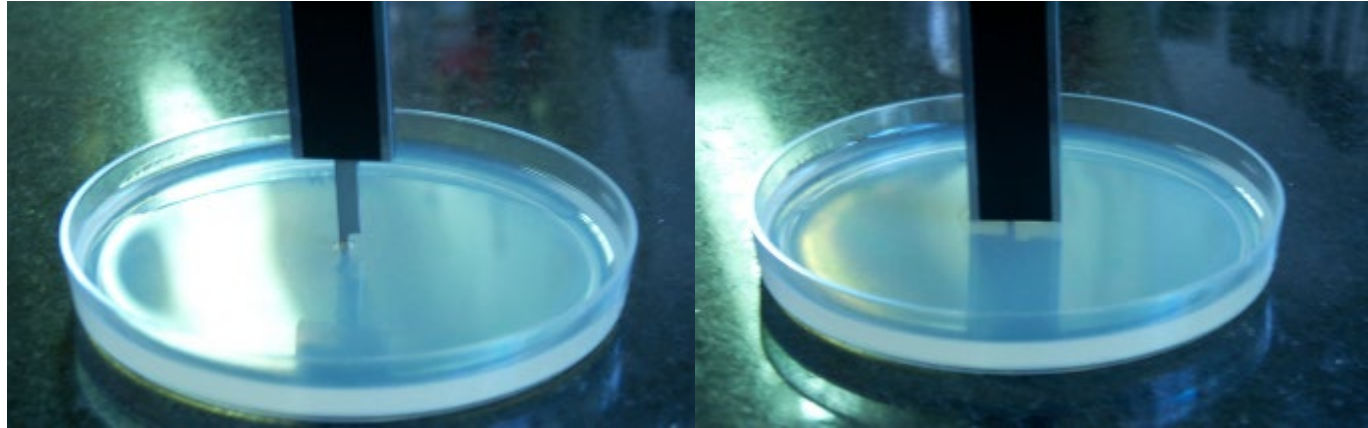
Si Ø = 10 cm	▶	31,4 ml
Si Ø = 9 cm	▶	25,4 ml
Si Ø = 8,5 cm	▶	22,7 ml

**Tolerância: ± 0,5 mm (3,5 - 4,5 mm)**

## Controle de profundidade do ágar.

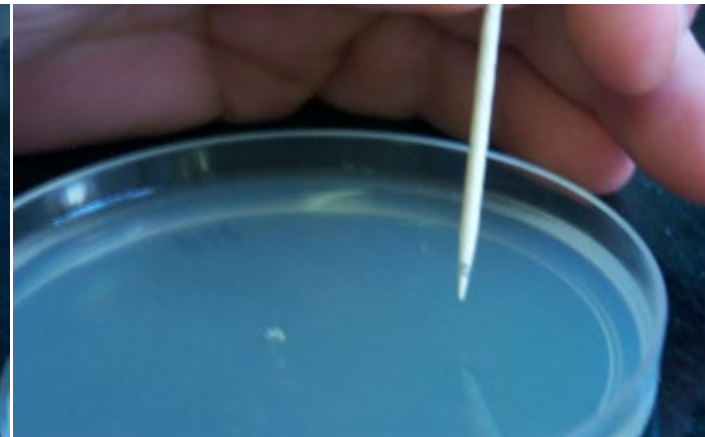
Frequência: Cada vez que se prepara ou compra um lote de placas

Com Calibre



Com régua

Com elemento marcado



# CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

## Método de Difusão. Controle de discos.

*E. coli* ATCC® 25922  
*E. coli* ATCC® 35218  
*P. aeruginosa* ATCC® 27853  
*S. aureus* ATCC® 25923  
*E. faecalis* ATCC® 29212

IDEAL SEMANALMENTE

ACEITÁVEL QUINZENALMENTE

TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones  
Unidas para la Alimentación  
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL  
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Table 4A-1  
Nonfastidious Disk Diffusion QC Excluding  $\beta$ -Lactam Combination Agents  
M02

Table 4A-1. Disk Diffusion QC Ranges for Nonfastidious Organisms and Antimicrobial Agents Excluding  $\beta$ -Lactam Combination Agents<sup>a</sup>

Antimicrobial Agent	Disk Content	Disk Diffusion QC Ranges, mm		
		<i>Escherichia coli</i> ATCC <sup>®</sup> 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC <sup>®</sup> 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC <sup>®</sup> 25923
Ampicillin	10 $\mu$ g	15-22	-	27-35
Azithromycin	15 $\mu$ g	-	-	21-26
Azlocillin	75 $\mu$ g	-	24-30	-
Aztreonam	30 $\mu$ g	28-36	23-29	-
Carbenicillin	100 $\mu$ g	23-29	18-24	-
Cefaclor	30 $\mu$ g	23-27	-	27-31
Cefamandole	30 $\mu$ g	26-32	-	26-34
Cefazolin	30 $\mu$ g	21-27	-	29-35
Cefdinir	5 $\mu$ g	24-28	-	25-32
Cefditoren	5 $\mu$ g	22-28	-	20-28
Cefepime	30 $\mu$ g	31-37	25-31	23-29
Cefetamet	10 $\mu$ g	24-29	-	-
Cefiderocol	30 $\mu$ g	25-31	22-31	-
Cefixime	5 $\mu$ g	20-26	-	-
Cefmetazole	30 $\mu$ g	26-32	-	25-34
Cefonicid	30 $\mu$ g	25-29	-	22-28
Cefoperazone	75 $\mu$ g	28-34	23-29	24-33
Cefotaxime	30 $\mu$ g	29-35	18-22	25-31
Cefotetan	30 $\mu$ g	28-34	-	17-23
Cefoxitin	30 $\mu$ g	23-29	-	23-29
Cefpodoxime	10 $\mu$ g	23-28	-	19-25
Cefprozil	30 $\mu$ g	21-27	-	27-33
Ceftaroline	30 $\mu$ g	26-34	-	26-35
Ceftazidime	30 $\mu$ g	25-32	22-29	16-20
Ceftibuten	30 $\mu$ g	27-35	-	-
Ceftizoxime	30 $\mu$ g	30-36	17-17	17-15
Ceftobiprole	5 $\mu$ g	25-31	-	20-27
Ceftriaxone	30 $\mu$ g	29-35	17-23	22-28
Cefuroxime	30 $\mu$ g	20-26	-	27-35

170

Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

M100-E031

For Use With M02

TRABAJANDO JUNTOS PARA COMBATIR LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SALUD ANIMAL  
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro





Table 4A-2  
Nonfastidious Disk Diffusion QC for  $\beta$ -Lactam Combination Agents  
M02

Table 4A-2. Disk Diffusion QC Ranges for Nonfastidious Organisms and  $\beta$ -Lactam Combination Agents<sup>a</sup>

Antimicrobial Agent	Disk Content	QC Organisms and Characteristics								
		<i>Escherichia coli</i> ATCC <sup>®b</sup> 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC <sup>®</sup> 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC <sup>®</sup> 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC <sup>®</sup> 35218 <sup>c,d</sup>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> 700603 <sup>c,d</sup>	<i>Escherichia coli</i> NCTC 13353 <sup>c,d</sup>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> BAA-1705 <sup>mc,d</sup>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> BAA-2814 <sup>m</sup>	<i>Acinetobacter baumannii</i> NCTC 13304 <sup>c,d</sup>
		$\beta$ -lactamase negative	Inducible AmpC	$\beta$ -lactamase negative, <i>mecA</i> negative	TEM-1	SHV-18 OXA-2 Mutations in <i>OmpK35</i> and <i>OmpK37</i> TEM-1	CTX-M-15	KPC-2 SHV	KPC-3 SHV-11 TEM-1	OXA-27
Zone Diameter QC Ranges, mm										
Amoxicillin-clavulanate (2:1)	20/10 $\mu$ g	18-24	-	28-36	17-22	-	-	-	-	-
Ampicillin	10 $\mu$ g	15-22	-	27-35	6	-	-	-	-	-
Ampicillin-sulbactam (2:1)	10/10 $\mu$ g	19-24	-	29-37	13-19	-	-	-	-	-
Aztreonam	30 $\mu$ g	28-36	23-29	-	31-38	10-16	-	-	-	-
Aztreonam-avibactam	30/20 $\mu$ g	32-38	24-30	-	31-38	26-32 <sup>e</sup>	-	-	-	-
Cefepime	30 $\mu$ g	31-37	25-31	23-29	31-37	23-29	6-15 <sup>f</sup>	-	-	6-16 <sup>f</sup>
Cefepime-enmetazobactam <sup>®</sup>	30/20 $\mu$ g	32-38	26-32	-	32-38	26-32	27-33	-	-	-
Cefepime-taniborbactam	30/20 $\mu$ g	31-37	25-31	-	31-37	24-31	24-30	22-27	-	-
Cefepime-tazobactam	30/20 $\mu$ g	32-37	27-31	24-30	-	25-30 <sup>e</sup>	27-31	-	-	-
Cefepime-zidebactam	30/30 $\mu$ g	33-40	29-35	-	-	28-34	29-35	-	-	19-25
Cefotaxime	30 $\mu$ g	29-35	18-22	25-31	-	17-25	-	-	-	-
Cefpodoxime	10 $\mu$ g	23-28	-	19-25	-	9-16	-	-	-	-
Ceftaroline	30 $\mu$ g	26-34	-	26-35	-	-	-	-	-	-
Ceftaroline-avibactam	30/15 $\mu$ g	27-34	17-26	25-34	27-35	21-27 <sup>e</sup>	-	-	-	-
Ceftazidime	30 $\mu$ g	25-32	22-29	16-20	-	10-18	-	-	-	-

M100-ED31

Cepa recomendada para QC de rotina

TRABAJANDO JUNTOS PARA COMBATIR LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL  
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

Ensaiar um desses agentes para confirmar a integridade da cepa de referência

TABELA 4D

M100-ED31

For Use With M02-D

### Table 4D. Disk Diffusion Troubleshooting Guide

This table provides guidance for troubleshooting and corrective action for out-of-range QC, primarily using antimicrobial susceptibility tests with MHA. Refer to M02,<sup>1</sup> Chapter 4, for additional information. Out-of-range QC tests are often the result of contamination or the use of an incorrect QC strain; corrective action should first include repeating the test with a pure culture of a freshly subcultured QC strain. If the issue is unresolved, this troubleshooting guide should be consulted regarding additional suggestions for troubleshooting out-of-range QC results and unusual clinical isolate results. In addition, see general corrective action outlined in M02<sup>1</sup> and notify manufacturers of potential product problems.

#### General Comment

- (1) QC organism maintenance: Avoid repeated subcultures. Retrieve new QC strain from stock (refer to M02,<sup>1</sup> Subchapter 4.4). If using lyophilized strains, follow the maintenance recommendations of the manufacturer.

Antimicrobial Agent	QC Strain	Observation	Probable Cause	Comments/Suggested Actions
<b>B-LACTAMS</b>				
β-lactam combination agents	<i>A. baumannii</i> ATCC <sup>®</sup> 13304 <i>E. coli</i> ATCC <sup>®</sup> 35218 <i>E. coli</i> ATCC <sup>®</sup> 13353 <i>K. pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> 700603 <i>K. pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> BAA-1705™	Zone too large or susceptible for single β-lactam agent; in range for combination β-lactam agent	Spontaneous loss of the plasmid encoding the B-lactamase	Obtain new frozen or lyophilized stock culture. Use other routine QC strains (if available). These strains should be stored at -60°C or below, and frequent subcultures should be avoided.  <b>NOTE:</b> <i>K. pneumoniae</i> BAA-2814™ is stable and does not require QC integrity check.
	β-lactam combination agents	<i>A. baumannii</i> ATCC <sup>®</sup> 13304 <i>E. coli</i> ATCC <sup>®</sup> 35218 <i>E. coli</i> ATCC <sup>®</sup> 13353 <i>K. pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> 700603 <i>K. pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> BAA-1705™ <i>K. pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> BAA-2814™	Zone too small or resistant for both the single β-lactam agent and the combination β-lactam agent	Antimicrobial agent is degrading.  Use alternative lot of test materials. Check storage and package integrity. Imipenem and clavulanate are especially labile.
Carbencillin	<i>P. aeruginosa</i> ATCC <sup>®</sup> 27853	Zone too small	QC strain develops resistance after repeated subculture.	See general comment (1) on QC strain maintenance.
Cefepime	<i>A. baumannii</i> NCTC 13304 <i>E. coli</i> NCTC 13353	QC strain integrity test	Discrete colonies may grow within the zone of inhibition when this organism is tested with cefepime 30-μg disk.	If this occurs, measure the colony-free inner zone.
Imipenem	<i>K. pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> BAA-1705™ <i>K. pneumoniae</i> ATCC <sup>®</sup> BAA-2814™	QC strain integrity test	Discrete colonies may grow within the zone of inhibition when this organism is tested with cefepime 30-μg disk.	If this occurs, measure the colony-free inner zone.

184

Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL  
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



# REGISTRO

## Síntese

- ❖ ESTERILIDADE
- ❖ PROFUNDIDADE DO ÁGAR
- ❖ pH
- ❖ CONTEÚDO DE TIMINA
- ❖ CONCENTRAÇÃO DE CÁTIOS DIVALENTES
- ❖ CARGA DOS DISCOS UTILIZADOS
- ❖ CEPAS PADRÕES
- ❖ EQUIPAMENTOS

O controle de qualidade é uma das ferramentas fundamentais para obter dados microbiológicos confiáveis e reproduzíveis, úteis para melhorar a qualidade do diagnóstico e para o fortalecimento da vigilância.

TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS



# MUITO OBRIGADO!!!

[pceriana@anlis.gob.ar](mailto:pceriana@anlis.gob.ar)

TRABAJANDO  
JUNTOS  
PARA COMBATIR  
LA RESISTENCIA  
A LOS ANTIMICROBIANOS

