

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

DOI: <https://doi.org/10.35168/2176-896X.UTP.Tuiuti.2025.Vol11.n71.pp176-188>



Julia Dala Rosa
Mario Rene Sibut Mares De Souza
Julia Vitória Selzelein Vieira

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

Resumo

As infecções de origem bacteriana ainda são de extrema importância, principalmente em cenários hospitalares, os quais envolvem a necessidade de que o diagnóstico de uma determinada infecção bacteriana seja diagnosticada e tratada corretamente. O objetivo deste trabalho consiste em realizar testes de controle de qualidade em discos antimicrobianos utilizados em antibiogramas no laboratório escola da Universidade Tuiuti do Paraná. Para isso, foram utilizadas plataformas de bases de dados como PubMed, PubMed Central, Scielo, Science Direct, sendo selecionados artigos entre o período de 2003 a 2025. O sucesso do tratamento de uma infecção bacteriana depende do perfil da bactéria e da imunidade do paciente, sendo essencial conhecer a sensibilidade bacteriana aos antibióticos, realizada por meio do método de disco-difusão. O método de disco-difusão foi utilizado na seguinte metodologia: as cepas *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 29213 foram preparadas em caldo BHI, incubadas e semeadas em ágar sangue, sendo armazenadas para uso posterior e quando o crescimento das cepas enfraquecia, novas suspensões eram preparadas. Para cada ciclo de testes, era feito um repique e o inóculo era ajustado ao padrão 0,5 de McFarland, então, a inoculação nas placas de ágar Mueller-Hinton era realizada com swab estéril em movimentos cruzados. Após a absorção do inóculo, os discos antimicrobianos eram aplicados com espaçamento adequado. As placas então eram incubadas por 16 a 24 horas, e os halos de inibição medidos e comparados com tabelas de referência. Assim, os resultados foram analisados de acordo com a sua classificação como aceitáveis e não aceitáveis e a média obtida, sempre categorizado a cepa e antibiótico. Observou-se desempenho insatisfatório do Cefepime, Amoxicilina e Doxiciclina para *E. coli* e da Cefepime, Ampicilina, Sulfazotrim e Oxacilina para *S. aureus*, possivelmente devido a variações de lotes ou erros operacionais. Antibióticos como Tetraciclina, Gentamicina e Eritromicina apresentaram os melhores resultados, mesmo com diferentes lotes e marcas. Conclui-se que o controle de qualidade dos insumos laboratoriais e o treinamento técnico adequado são essenciais para garantir a confiabilidade dos testes de sensibilidade.

Palavras-chave: Controle de qualidade. Antibiograma. Disco-difusão.

Quality control of antimicrobial discs for sensitivity testing in a school laboratory

Abstract

Bacterial infections are still of extreme importance, especially in hospital settings, which require the correct diagnosis and treatment of a given bacterial infection. The objective of this work is to perform quality control tests on antimicrobial discs used in antibiograms at the teaching laboratory of Tuiuti University of Paraná. For this purpose, database platforms such as PubMed, PubMed Central, Scielo, and Science Direct were used, selecting articles published between 2003 and 2025. The success of treating a bacterial infection depends on the bacterial profile and the patient's immunity, making it essential to know the bacterial sensitivity to antibiotics, performed using the disk diffusion method. The disk diffusion method was used in the following methodology: *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 29213 strains were prepared in BHI broth, incubated and inoculated on blood agar, and stored for later use; when the growth of the strains weakened, new suspensions were prepared. For each test cycle, a subculture was made, and the inoculum was adjusted to the 0.5 McFarland standard; then, inoculation on Mueller-Hinton agar plates was performed with a sterile swab in crossed movements. After the inoculum was absorbed, the antimicrobial discs were applied with adequate spacing. The plates were then incubated for 16 to 24 hours, and the inhibition halos were measured and compared with reference tables. Thus, the results were analyzed according to their classification as acceptable and unacceptable, and the average obtained, always categorizing the strain and antibiotic. Unsatisfactory performance was observed for Cefepime, Amoxicillin, and Doxycycline for *E. coli* and for Cefepime, Ampicillin, Sulfazotrim, and Oxacillin for *S. aureus*, possibly due to batch variations or operational errors. Antibiotics such as Tetracycline, Gentamicin, and Erythromycin showed the best results, even with different batches and brands. It is concluded that quality control of laboratory supplies and adequate technical training are essential to guarantee the reliability of sensitivity tests.

Keywords: Quality control. Antibiotic susceptibility testing. Disk diffusion.

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

1. Introdução

As doenças de origem bacteriana e suas consequências a curto, médio e longo prazo são de extrema importância clínica e de interesse científico, devido às consequências para a saúde pública geradas pela crescente resistência microbiana aos antimicrobianos, que num futuro não muito distante, acarretará a necessidade de criação de novos antimicrobianos, já que os existentes se tornarão obsoletos (O'NEILL; *et al.*, 2014, *apud* FÉLIX, 2022, p. 10).

Como o sucesso do tratamento depende do perfil da bactéria e da imunidade inata do paciente, é extremamente importante o conhecimento do perfil de sensibilidade das bactérias ao antibiótico para uma melhor evolução do paciente. Um dos métodos mais utilizados no Brasil e no mundo para teste de sensibilidade a antimicrobianos, é o método de disco-difusão, também conhecido como método de Kirby-Bauer (ALTERTHUM & TRABUSI, 2015).

Com base nesses pontos, o presente trabalho tem como objetivo realizar o controle de qualidade de 3 marcas de 15 discos antimicrobianos para duas cepas padronizadas, a *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Além de elucidar outros fatores interferentes na realização do teste de sensibilidade antimicrobacteriana em um laboratório-escola.

2. Fundamentação teórica

Na presente pesquisa foram utilizados como fonte para a busca de referencial teórico, plataformas como, PubMed, LILACS, Scielo, BrCAST com o uso de palavras chaves como, disco-difusão, controle de qualidade, método de Kirby-Bauer, MRSA e resistência bacteriana.

Já na parte prática, para se ter uma padronização dos resultados foram criadas duas metodologias. Primeiramente, controle de qualidade dos materiais utilizados, no qual foram utilizadas cepas

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

bacterianas sensíveis com o perfil de sensibilidade conhecido, que são originadas da organização American Type Culture Collection (ATCC) (BrCAST, 2025).

Assim como, uso de tabelas de ponto de corte e/ou referências dos valores a serem lidos, os quais podem se adequar a controles de qualidade e a exames da rotina laboratorial. Atualmente no Brasil são utilizadas duas bases de dados, o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e o Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade Antimicrobiana (BrCAST) (ALTERTHUM E TRABUSI, 2015; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

2.1 Método de Kirby-Bauer

O método padrão para testar a susceptibilidade microbiana é o de Kirby-Bauer ou de disco-difusão e foi o utilizado nas repetições de testes no laboratório escola da Universidade Tuiuti do Paraná. Foram selecionadas as cepas *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 29213 que foram suspendidas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubadas em estufa cerca de 2 horas, e então foram semeadas em placa de ágar sangue, incubadas novamente e armazenadas em geladeira, sendo usadas como placas originais para repique. Após algumas semanas da data original de suspensão das cepas, era necessária a suspensão de outra cepa, devido a cepa original enfraquecer e diminuir/cessar o crescimento (SEJAS *et al.*, 2003).

A cada novo ciclo de testes era realizado um repique da cepa original em placa nova de ágar sangue para então ser feita a preparação do inóculo, a partir de salina com uma a duas Unidades Formadoras de Colônias (UFCs), até atingir a escala de padrão de turvação 0,5 de McFarland. Em seguida, um swab estéril é inserido nesse inóculo e comprimido nas paredes do tubo, para retirar o excesso de líquido do swab, para então realizar a inoculação em forma de estrias em placa de ágar Mueller-Hinton de 150mm de diâmetro. A inoculação foi feita por toda placa de lado a lado da

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

placa, girando a 60°, por três vezes e após isso, o swab era passado nas bordas do ágar para garantir inoculação total da placa (HUDZICKI, 2009).

Com esses procedimentos feitos, a placa já inoculada era deixada fechada por cerca de 5 minutos, para que o ágar absorvesse a umidade do inóculo, para assim ser possível seguir com a aplicação dos discos. Passado esse tempo, os discos, que foram retirados uma hora antes da aplicação, são aplicados no ágar com uma pinça esterilizada a cada disco aplicado, garantindo a distância de pelo menos 24 mm entre o centro de cada disco e 15 mm da borda da placa (SEJAS et al., 2003).

Após a aplicação, a *E. coli* ATCC 25922 permanecia incubada por cerca de 16 a 18 horas e a *S. aureus* ATCC 29213 permanecia na estufa por cerca de 18 a 24 horas para garantir a difusão dos discos de clindamicina e oxacilina. A leitura do diâmetro de cada um dos halos era realizada após essas horas, por meio de régua ou paquímetro, para então esses resultados serem comparados com a tabela de referência do CLSI.

3. Resultado e Discussão

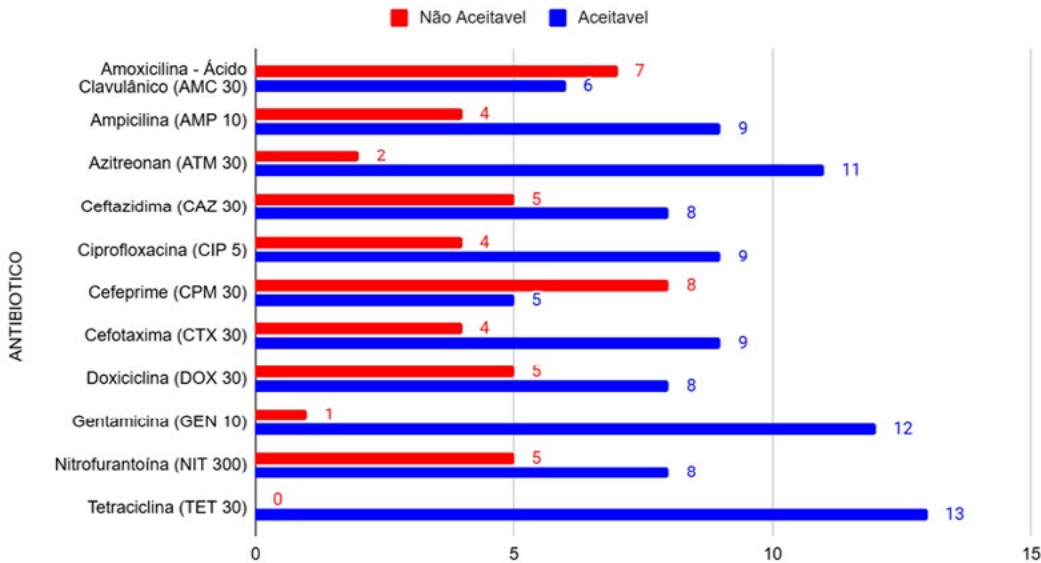
Para a avaliação dos dados, foram utilizadas duas metodologias distintas. A primeira foi a elaboração de gráficos com a classificação em aceitável e não aceitável de acordo com os valores de intervalo estabelecidos pelo CLSI em 2024. Assim, foram considerados resultados relevantes para a discussão os valores iguais ou menores que 5 e iguais ou maiores que 8, considerando a amplitude entre os comparativos. Resultados entre 6-7, foram considerados inadequados e necessitam de maiores estudos. Para a segunda metodologia foi realizada a produção de uma tabela com as médias dos resultados obtidos durante toda a amostragem e comparado com os valores de desvio padronizados pelo CLSI em 2024.

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

3.1. *Escherichia coli* ATCC 25922

Como apresentado no Gráfico 1, o Cefepime apresentou um resultado insatisfatório. Esse resultado pode ser associado aos diferentes lotes usados durante o estudo, pois ocorreu a variação entre três lotes da marca CECON. Porém, não podemos descartar erros operacionais durante a avaliação do mesmo. Já a Amoxicilina - Ácido Clavulânico necessita de mais estudo por conta da proximidade entre os resultados obtidos, mesmo com a média apresentada na Tabela 1 estando dentro do padrão.

Gráfico 1 - Resultados aceitáveis e não aceitáveis de acordo com o CLSI 2024 para *E. Coli*.



Fonte: Autores (2025).

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

Com exceção destes dois antibióticos, todos os outros apresentaram resultados com uma variação aceitável, podendo citar principalmente o desenvolvimento da Tetraciclina, da Gentamicina e do Azitreonam que tiveram os melhores resultados, mesmo ocorrendo alteração de lotes durante o processo. Apresentando assim respectivamente 100%, 83% e 91% de resultados dentro dos parâmetros.

Quando consideramos a análise da média das medições obtidas (tabela 1), somente dois antibióticos não se adequam aos valores de referência. Sendo o cefepime e a doxiciclina, onde ambas apresentam uma média abaixo do desejado. Como já relatado anteriormente, os resultados referentes ao cefepime podem ser associados aos diferentes lotes do antibiótico.

Tabela 1 - Médias de resultados apresentados durante o estudo para *E. Coli* ATCC 25922

<i>E. coli</i> ATCC 25922		
Antibiótico	Média obtida (n=13)	Valor de referência*
Amoxicilina - Ácido Clavulânico (AMC 30)	19,692	18-24
Ampicilina (AMP 10)	19,000	15-22
Aztreonam (ATM 30)	27,308	28-36
Ceftazidima (CAZ 30)	26,000	25-32
Ciprofloxacina (CIP 5)	31,385	29-37
Cefepime (CPM 30)	29,385	31-37
Cefotaxima (CTX 30)	30,385	29-35
Doxiciclina (DOX 30)	15,846	18-24
Gentamicina (GEN 10)	19,923	19-26
Nitrofurantoína (NIT 300)	20,769	20-25
Tetraciclina (TET 30)	21,923	18-25

* Valores de intervalo padrão de acordo com a planilha de controle de qualidade do CLSI 2024.

Fonte: Autores (2025).

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

Já a Doxiciclina, apresentou um resultado agradável na comparação individual de cada leitura, porém com uma média insatisfatória no aspecto geral. Esses resultados são associados a somente um frasco de antibiótico devida a disponibilidade da faculdade, podendo ser uma variação referente a erros operacionais referentes ao armazenamento ou alguma especificidade em relação ao próprio lote em específico.

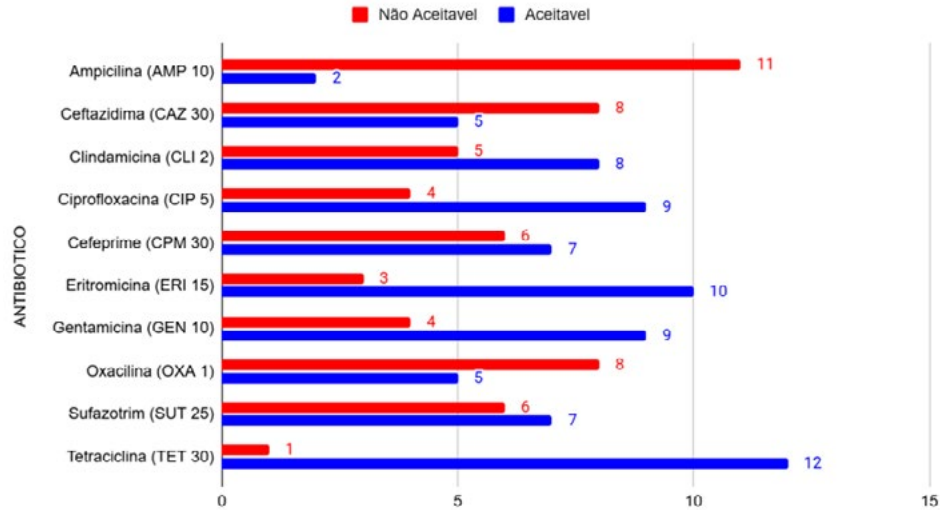
3.2. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Como apresentado no Gráfico 2., a Ampicilina apresentou uma predominância de resultados fora do adequado. Podemos associar esses valores com a utilização de duas marcas para a realização dos ensaios, assim como a instabilidade do antibiótico (situação que pode ocorrer com outros β -lactâmicos) onde o mal estado de conservação ou variações muito bruscas podem levar a perda de potência nos discos (SEJAS, 2003).

Além disso, é possível notar que a Oxacilina e a Ceftazidima não tiveram um bom desempenho durante os testes. A Oxacilina teve uma grande amplitude de resultados foram dos valores de referência e uma média acima dos mesmo, assim podemos considerar que Oxacilina teve um erro operacional, já que a mesma apresenta uma característica de difusão lenta e facilmente a cepa pode desenvolver uma resistência por mutação. Já a Ceftazidima, pode se relacionar a ser utilizados duas marcas diferentes durante o ensaio, sendo dois lotes da CECON e um da LABORCLIN.

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

Gráfico 2 - Resultados aceitáveis e não aceitáveis de acordo com o CLSI 2024 para *S. aureus*.



Fonte: Autores (2025).

O Sulfazotrim apresentou uma baixa amplitude na análise do Gráfico 2, porém quando analisamos sua média na Tabela 2 temos um resultado dentro do esperado, essa variância entre os resultados deve ser melhor explorada. Outro antibiótico que não apresentou resultados satisfatórios foi o Cefepime, esse medicamento apresentou uma baixa amplitude nos números de resultados aceitáveis e uma média abaixo dos padrões estabelecidos. Os motivos para essa variância já foram apresentados no tópico 3.1.

Por último, os antimicrobianos Clindamicina, Ciprofloxacina, Eritromicina, Gentamicina e Tetraciclina tiveram um ótimo desenvolvimento. Principalmente a Tetraciclina e a Eritromicina que tiveram uma grande amplitude entre os resultados, apresentando 83% e 77% de resultados aceitáveis

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

respectivamente e ambas as médias entraram nos valores de referência, mesmo com variações nos lotes e marcas, sendo utilizados dois lotes da Tetraciclina da CECON e três marcas diferentes da Eritromicina.

Tabela 2 - Médias de resultados apresentados durante o estudo para *S. aureus* ATCC 29213.

<i>S. aureus</i> ATCC 29213		
Antibiótico	Média obtida (n=13)	Valor de referência*
Ampicilina (AMP 10)	34,308	27-35
Ceftazidima (CAZ 30)	20,000	16-20
Clindamicina (CLI 2)	27,615	24-30
Ciprofloxacina (CIP 5)	26,077	22-30
Cefepime (CPM 30)	19,769	23-29
Eritromicina (ERI 15)	26,615	22-30
Gentamicina (GEN 10)	23,462	19-27
Oxacilina (OXA 1)	26,462	18-24
Sulfazotrim (SUT 25)	24,692	24-32
Tetraciclina (TET 30)	26,077	24-30

* Valores de intervalo padrão de acordo com a planilha de controle de qualidade do CLSI 2024.

Fonte: Autores (2025).

Considerações finais

Com base nos resultados obtidos podemos concluir a importância do controle de qualidade nos materiais a serem utilizados, principalmente para identificar variações em materiais já aprovados. Assim, minimizando os problemas para a utilização e resultados incorretos a serem entregues aos pacientes.

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

Como é possível observar, são necessárias pesquisas constantes nessa área, principalmente visando ensaios com um grupo maior de testes a serem avaliados. Assim podendo analisar melhor os resultados de antibióticos como a Amoxicilina - Ácido Clavulânico no caso da *E. coli* e o Cefepime e o Sufazotrim no caso da *S. aureus* que apresentaram uma grande variação entre os resultados.

Por fim, dentro do laboratório escola é interessante a realização de controles frequentes dos antibióticos e cepas, assim como o treinamento aprofundados dos graduandos ao realizar este exame.

Referências

ALTERTHUM, F.; TRABUSI, L. R. **Microbiologia**. Editora Atheneu, 6. ed. p. 93-97, 2015.

BrCAST – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - **Tabelas de pontos de corte, instruções e outros documentos**. Disponível em: <<https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>>. Acesso em: 30 may. 2025.

FÉLIX, Grasielle C. **Desafios sobre o desenvolvimento de resistência de Escherichia coli a antibióticos**: Uma revisão sobre linhagens patogênicas. Araras: Universidade Federal de São Carlos, 2022.

HUDZICKI, J. **Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol**. American Society of Microbiology. 2009.

Controle de qualidade dos discos de antimicrobianos para testes de sensibilidade em laboratório escola

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Uso indiscriminado de antimicrobianos e resistência microbiana**. Brasil: Ministério da Saúde, 2010.

SEJAS, L. M., SILBERT, S., REIS, A. O., SADER, H. S. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial**, v. 39, n. 1, 2003.