



Detecção de mecanismos de resistência em Gram positivos

ALESSANDRO C. O. SILVEIRA



Since
1936

ESTAFILOCOCOS

- **Identificação**
 - **Coagulase positivos**
 - *Staphylococcus aureus* complexo
 - *Staphylococcus pseudintermedius*
 - **Coagulase negativos**
 - *Staphylococcus epidermidis*
 - *Staphylococcus lugdunensis*
- **Presença de penicilinas**
- **Detecção de resistência à oxacilina**
- **Detecção da diminuição da susceptibilidade à vancomicina**

PENICILINASES

RESISTENTE



Bordas bem definidas e halo de inibição maior ou igual a 26 mm

SENSÍVEL



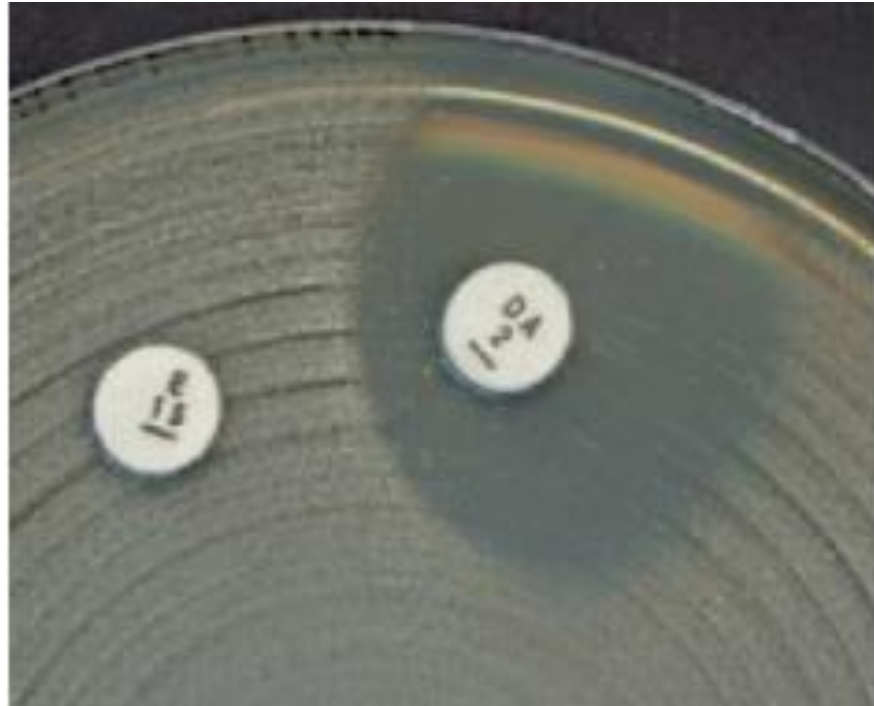
Bordas mal definidas e halo de inibição maior ou igual a 26 mm

		Resultado da CIM ou disco-difusão para cefoxitina	
		S	R
Categoria da CIM de oxacilina	S	Reportar como oxacilina S	Reportar como oxacilina R
	R	Reportar como oxacilina R	Reportar como oxacilina R

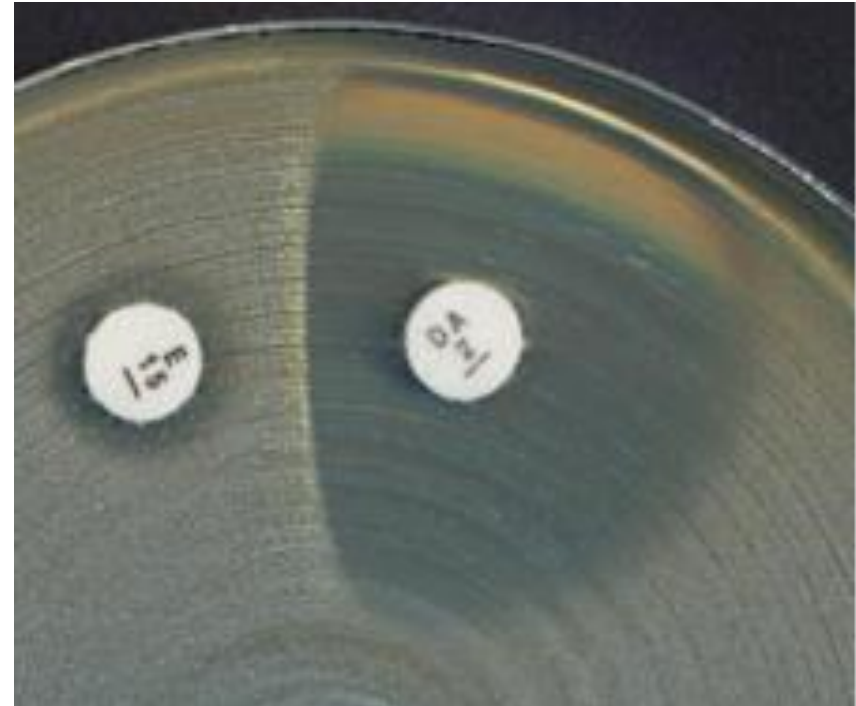
TESTES

- Determinação da CIM de oxacilina – **SENSÍVEL**: menor ou igual a 4 mg/L
- Disco difusão de cefoxitina – **SENSÍVEL**: maior ou igual a 22 mm
- Aglutinação em látex
- Testes genotípicos

CLINDAMICINA



D TESTE NEGATIVO



D TESTE POSITIVO

TESTES

Determinação da CIM de vancomicina– SENSÍVEL: menor ou igual a 2 mg/L

Testes para detectar hetero-resistência:

- **Macro gradiente:**
 - teicoplanina ≥ 12 mg/L: GRSA, GISA ou hGISA
 - teicoplanina ≥ 8 mg/l: testar a vancomicina. Se a leitura for ≥ 8 mg/L, trata-se de GRSA, GISA ou hGISA
 - teicoplanina < 8 mg/L: não é GRSA, GISA ou hGISA

- **GRD:**
 - considerado positivo se resultado for ≥ 8 mg/L para teicoplanina ou vancomicina

- **Triagem com Mueller Hinton com 5 mg/L de teicoplanina:**
 - crescimento de duas ou mais colônias é considerado positivo

- **Teste confirmatório:**
 - PAP-AUC

ATENÇÃO!!

Para a concentração dos discos:

Penicilina: 1 U

Linezolida: 10 µg

Nitrofurantoína: 100 µg

ENTEROCOCOS

- **Resistências intrínsecas**
 - Sulfas
 - Cefalosporinas
 - Lincosamidas
 - Aminoglicosídeos (baixo grau)
- **Identificação espécie**
 - *Enterococcus casseliflavus*
 - *Enterococcus gallinarum*
- **Detecção de HLAR**
- **Detecção da resistência adquirida à vancomicina (VRE)**

VANCOMICINA

Importância da detecção da resistência	
Necessário para categorização da sensibilidade	Sim
Controle de infecção/saúde pública	Sim
Saúde pública	Sim

TESTES

Determinação da CIM – SENSÍVEL: menor ou igual a 4 mg/L

Disco difusão – SENSÍVEL: maior ou igual a 12 mm

Triagem em ágar 6 mg/L de vancomicina

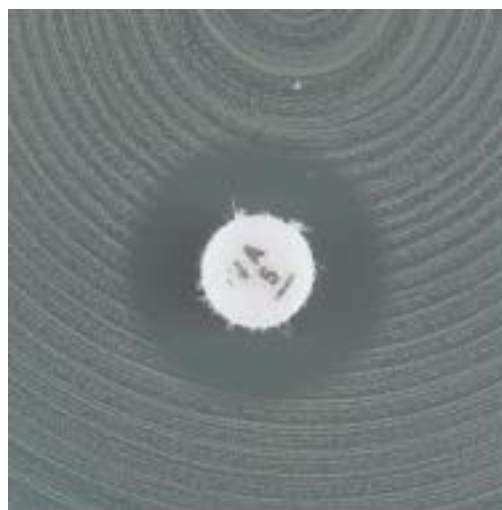
Testes genotípicos

Halos de inibição com bordas difusas/mal definidas e colônias dentro do halo indicam resistência à vancomicina. Se o halo de inibição for ≥ 12 mm e as bordas do halo forem difusas / mal definidas, o isolado deverá ser investigado mais detalhadamente.

**VERIFICAR A PUREZA E
CONFIRMAR A ESPÉCIE**



SENSÍVEL



RESISTENTE



ATENÇÃO!!

Para a concentração dos discos:

Ampicilina: 2 μg

Gentamicina: 30 μg

Vancomicina: 5 μg

Nitrofurantoína: 100 μg

ESTREPTOCOCOS

- **Hemólise (sangue de carneiro)**
- **Identificação**
- **Sítio anatômico**

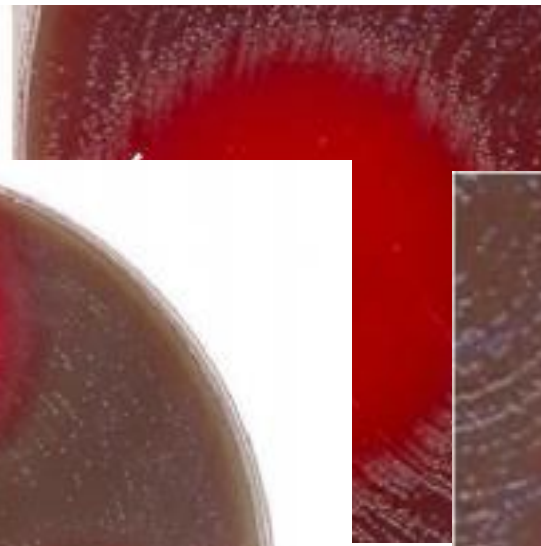
Diâmetro do halo de inibição (mm) com oxacilina	Agente antimicrobiano	Testes adicionais e/ou interpretação
≥ 20 mm	Todos os agentes β-lactâmicos para os quais estão listados pontos de corte clínicos (incluindo aqueles com observações)	Reportar sensível independente da indicação clínica, exceto para cefaclor, o qual deve ser reportado como intermediário
< 20 mm*	Benzilpenicilina (meningite) e fenoximetilpenicilina (todas as)	Reportar resistente

Importância

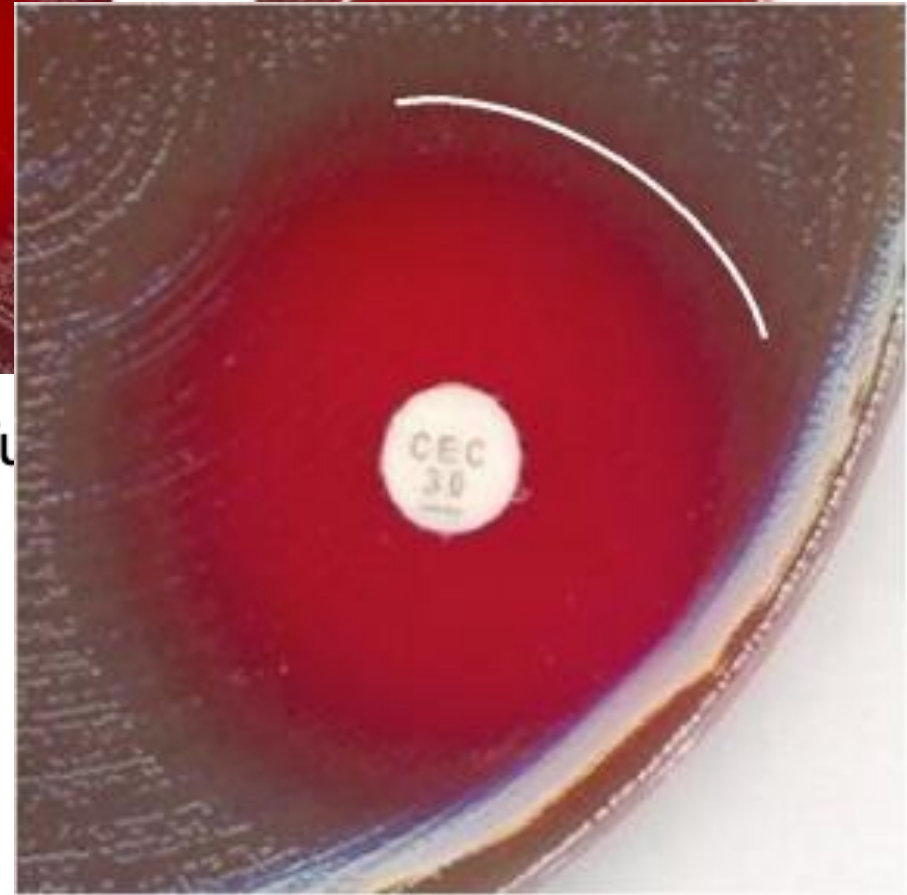
Indicações	Ponto de corte CIM (mg/L)		Notas
	S ≤	R >	
Benzilpenicilina (não meningite)	0,06	2	<p>Na pneumonia, quando a dose de 1,2 g 6/6 h é utilizada, os isolados com CIM ≤0,5 mg/L devem ser considerados sensíveis à benzilpenicilina.</p> <p>Na pneumonia, quando a dose de 2,4 g 6/6 h ou 1,2 g 4/4 h é utilizada, os isolados com CIM ≤1 mg/L devem ser considerados sensíveis à benzilpenicilina.</p> <p>Na pneumonia, quando a dose de 2,4 g 4/4 h é utilizada, os isolados com CIM ≤2 mg/L devem ser considerados sensíveis.</p>
Benzilpenicilina (meningite)	0,06	0,06	



Usualmente há crescimento em toda a área de α -hemólise.



s difu



Para alguns organismos, há uma α -hemólise adicional sem crescimento. Inclinando a placa para diferenciar hemólise de crescimento!

ATENÇÃO!!

Para a concentração dos discos:

Ampicilina: 2 µg

Para o meio de cultura:

**Ágar Mueller-Hinton + sangue de cavalo desfibrinado
5% e 20 mg/L de β -NAD (MH-F)**

OBRIGADO!!

Alessandro C. O. Silveira

alessandro.silveira@dasa.com.br

acosilveira@furb.br

(47) 99974-1213