

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.090 – Página 1/4	
Título do Documento	MICROBIOLOGIA: TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS	Emissão: 11/03/2025	Próxima revisão: 11/03/2027
		Versão: 01	

1. OBJETIVO

- Descrever a metodologia empregada no setor de microbiologia para avaliação do perfil de sensibilidade aos antifúngicos em amostras clínicas com crescimento de *Candida sp.* e *Cryptococcus sp.*.

2. MATERIAIS

- Kit MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIX;
- Painéis Phoenix de ID/TSA;
- Chromagar Candida Plastlabor;
- Equipamento BD Phoenix System (fabricado por Becton Dickinson and Company. Registro Anvisa: 10033430436);
- Tubos de ensaio;
- Pipetas de microdiluição e ponteiras.

3. DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

3.1. Recomendações gerais

De acordo com o Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos (BrCAST) os testes de sensibilidade aos antifúngicos (TSA) são indicados para:

1. Fungos que causam infecções invasivas;
2. Tratamento antifúngico falho ou recidivante;
3. Presença de resistência intrínseca ou adquirida aos antifúngicos;
4. Quando a sensibilidade não pode ser prevista com segurança apenas pela identificação da espécie.

De acordo com o Manual de Critérios Diagnósticos de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (ANVISA), os diagnósticos de infecções causadas por fungos de espécies de *Candida* devem ser realizados com cautela, visto que tais fungos são considerados flora normal (podendo causar infecção de forma oportunista) em seres humanos:

- a. *Candida spp.* não podem ser considerados como agentes causadores da pneumonia, a menos que sejam identificados a partir de amostra de **tecido pulmonar ou líquido**

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.090 – Página 2/4	
Título do Documento	MICROBIOLOGIA: TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS	Emissão: 11/03/2025	Próxima revisão: 11/03/2027
		Versão: 01	

pleural;

- b. *Candida* spp. isolada do escarro, aspirado endotraqueal, espécimes de lavagem broncoalveolar ou espécimes de escovado protegido, **combinada com uma amostra de sangue**, pode ser utilizada para satisfazer o critério de pneumonia diagnosticada microbiologicamente;
- c. Diferentemente do que ocorre com bactérias, a quantificação do número de colônias não é útil no diagnóstico de ITU por *Candida* spp., sendo que somente há indicação de tratamento para candidúria assintomática em pacientes de risco para desenvolvimento de candidemia, tais como: **neonatos, neutropênicos e pacientes submetidos a procedimentos urológicos**;

Considerando o exposto acima, o antifungograma para as espécies de *Candida* será realizado em situações específicas (conforme tabela abaixo), visando a objetividade do teste para tratamento a ser instituído ou revisto.

Tabela 1. Teste de antifúngicos em *Candida* spp.

TESTE DE ANTIFÚNGICOS EM <i>Candida</i> spp.					
	URINA	ST, LBA, ESC	SANGUE	SÍTIOS ESTÉREIS	SÍTIOS NÃO-ESTÉREIS
NEONATOS	SIM	SIM	SIM	SIM	NÃO
IMUNOSSUPRIMIDOS	NÃO (*)	NÃO (*)	SIM	SIM	NÃO
IMUNOCOMPETENTES	NÃO	NÃO	SIM	SIM	NÃO

ST: Secreção traqueal; LBA: Lavado Broncoalveolar; ESC: Escarro; **Sítios estéreis**: Líquido pleural, sinovial, pericárdico, cefalorraquidiano, entre outros; **Sítios não estéreis**: ponta de cateter, pele, fezes, entre outros; (*): exceção para culturas de 2a. amostra.

Fonte: Anvisa, 2017.

No Manual da Anvisa está descrito que em amostras de sangue (hemoculturas) alguns microrganismos têm alto valor preditivo positivo para bacteremia verdadeira (> 90%), mesmo quando isolado em somente uma amostra. É o caso das espécies *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp., os quais representam, quase sempre, infecção verdadeira. Portanto, todas as hemoculturas positivas para tais espécies serão acompanhadas do teste de sensibilidade.

Para pacientes imunossuprimidos e imunocompetentes em internação hospitalar poderá ser realizado o teste de sensibilidade a partir da coleta/envio de uma **segunda amostra para cultura do mesmo sítio com positividade para o mesmo microrganismo, desde que haja indicação clínica de tratamento**. Nessa hipótese, o laudo será liberado sem o teste de sensibilidade e a **cepa armazenada por até três dias**, para que os setores responsáveis pelo paciente avaliem a necessidade do teste. Caso o teste seja necessário, deve-se entrar em contato com o setor de microbiologia para comunicar tal necessidade, para assim darmos sequência à análise.

O crescimento de *Cryptococcus* spp. em amostras clínicas será sempre acompanhado do teste de sensibilidade aos antifúngicos.

Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.090 – Página 3/4	
Título do Documento	MICROBIOLOGIA: TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS	Emissão: 11/03/2025	Próxima revisão: 11/03/2027
		Versão: 01	

3.2. Método de análise

As amostras enviadas à UACAP inicialmente são semeadas em meios de cultura para prover o crescimento microbiano. As incubações para crescimento de fungos variam de acordo com o meio de cultura utilizado na semeadura, podendo variar de 2 a 30 dias. As espécies de *Candida* e de *Cryptococcus* geralmente crescem nos primeiros sete dias de incubação (caso não haja terapia antifúngica instituída).

Após a verificação do crescimento da forma leveduriforme, a depender da característica morfológica, o microrganismo é repicado em meio cromogênico ou colocado para identificação em painel automatizado. Em seguida, é realizado o teste de sensibilidade para os antifúngicos, **somente nos casos indicados**, seguindo as etapas de acordo com as orientações do fabricante (bula):

1. Preparação do inóculo:

- Realizar uma suspensão de levedura em 2-5 ml de NaCl 0,9% de acordo com o padrão McFarland 0,5;

2. Preparação da amostra em meio MICRONAUT-RPMI-1640:

- Pipetar 100 µl de AST indicator em 11,5 de solução MICRONAUT-RPMI-1640 Medium+MOPS+GLUCOSE;
- Pipetar 50 µl de Methylene blue solution na solução MICRONAUT-RPMI-1640 Medium+MOPS+GLUCOSE;
- Pipetar 10 µl do inóculo na solução MICRONAUT-RPMI-1640 Medium+MOPS+GLUCOSE;

3. Inoculação da amostra na placa de teste MIC MICRONAUT-AM

- Pipetar 100 µl da solução total de MICRONAUT-RPMI-1640 Medium+MOPS+GLUCOSE em cada poço de teste;
 - Cobrir a placa com folha de vedação;
4. Incubar a placa inoculada em condições aeróbias (35º - 37º C) durante 24 – 48 horas.
 5. Realizar a leitura visual do crescimento microbiano;
 6. Análise (EUCAST) e liberação.

3.3. Considerações finais

O Kit MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIX é específico para as espécies de *Candida* spp. e de *Cryptococcus* spp., logo, a realização do teste de sensibilidade aos antifúngicos só pode ser realizada para esses microrganismos, sob as condições descritas acima.



Tipo do Documento	PROCEDIMENTO / ROTINA	POP.UACAP.090 – Página 4/4	
Título do Documento	MICROBIOLOGIA: TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS	Emissão: 11/03/2025	Próxima revisão: 11/03/2027
		Versão: 01	

4. REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada a Assistência à saúde. Módulo 4: Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame a análise microbiológica e laudo final.** Brasília: Anvisa, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 3: Principais Síndromes Infecciosas.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Critérios Diagnósticos de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2017.

EUCAST. **European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs for antifungal agents.** Version 11.0, valid from 2024-12-02.

5. HISTÓRICO DE REVISÃO

VERSÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO
01	20/02/2025	Elaboração do POP.

Elaboração Letícia Cristina Limiere Ana Paula Avenia Nathalie Gaebler Vasconcelos	Data: 20/02/2025
Validação Graciela Mendonça dos Santos Bet - STGQ	Data: 10/03/2025
Aprovação: Viviane Regina Noro - UACAP Tiago Amador Correia - GAS	Data: 10/03/2025 Data: 11/03/2025

Assinado eletronicamente no Processo SEI nº 23529.015847/2021-78.

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que indicada a fonte.