

Orientação para o envio de amostras biológicas e cepas suspeitas de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) para o monitoramento de aspergilose, mucormicose, fusariose e candidíase ao Instituto Adolfo Lutz

Abril/2023

Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) consiste em grande desafio para a saúde pública em todo o mundo. Agentes fúngicos considerados anteriormente como contaminantes ambientais e, portanto, de pouca importância clínica, são agora conhecidos agentes causais de enfermidades disseminadas em pacientes imunodeprimidos. Esta condição tem levado as autoridades de saúde pública a atuar mais fortemente no combate às infecções fúngicas, um exemplo é a lista de prioridades de patógenos fúngicos publicada recentemente pela Organização Mundial de Saúde (OMS), com o objetivo de orientar o manejo e tratamento das principais doenças causadas por fungos. Vários patógenos desta lista são agentes de IRAS.

As populações de pacientes em risco de IRAS estão atualmente em expansão e incluem na maioria das vezes pessoas mais velhas, acima de 20 anos, aquelas com sistemas imunológicos comprometidos por HIV, quimioterapia para câncer ou tratamento de imunossupressão necessária para transplante, bem como aqueles com infecções virais graves, como vírus influenza e COVID-19. Este último grupo de pacientes experimentou surtos de infecção por alguns grupos de fungos, como, *Aspergillus spp*, *Candida spp*, incluindo *C. auris*, e os da Ordem Mucorales, como *Rhizopus sp*, que exibem robustez intrínseca e adquirida resistência a tratamentos antifúngicos

ASPERGILOSE PULMONAR

A aspergilose pulmonar é uma doença infecciosa causada por fungos do gênero *Aspergillus*, contraída principalmente por via inalatória e fortemente influenciada pela condição imunológica do hospedeiro, como pacientes alérgicos, imunodeprimidos, neutropênicos, transplantados ou pacientes com sequelas pulmonares cavitárias de tuberculose. Outros pacientes críticos tais como portadores de cirrose, doença pulmonar obstrutiva crônica refratária a tratamento convencional, hepatite aguda alcoólica, grandes queimados e portadores de formas graves de infecção por influenza, também podem desenvolver a aspergilose pulmonar invasiva. Estima-se que 300.000 pacientes contraem a doença por ano, com 80% de casos fatais.

MUCORMICOSE

A mucormicose, é uma infecção fúngica invasiva, rara e grave, causada por fungos da Ordem Mucorales, e acomete principalmente pessoas com diabetes mellitus descompensada e indivíduos com outros fatores de risco como câncer, receptores de transplantes, terapia com corticosteroides, neutropenia e COVID-19. É uma doença de diagnóstico difícil, frequentemente tardio, com elevada morbidade e mortalidade.

FUSARIOSE – HIALO-HIFOMICOSE

A fusariose é provocada por fungos oportunistas do gênero *Fusarium*. Estes fungos estão presentes no ambiente e, têm sido relacionados a infecções localizadas ou invasivas em pacientes imunocomprometidos, sobretudo naqueles portadores de neoplasias hematológicas ou submetidos ao transplante de medula óssea. No Brasil, as espécies de *Fusarium* tornaram-se uma das principais causas de doença fúngica invasiva em pacientes hematológicos e podem ser o segundo patógeno fúngico nosocomial mais comum depois de *Aspergillus* em alguns hospitais terciários. Desde 1980, as infecções por *Fusarium* têm sido observadas em pacientes gravemente imunocomprometidos com uma taxa de mortalidade de 100%, por exemplo, em casos de envolvimento cerebral.

CANDIDÍASE e outras leveduroses

Infecções causadas por fungos do gênero *Candida*, principalmente candidemias, apresentam elevadas taxas de morbidade e mortalidade, particularmente em pacientes que demandam cuidados de terapia intensiva por períodos prolongados, submetidos a procedimentos médicos invasivos, e/ou imunodeprimidos. As espécies mais frequentemente responsáveis pelas infecções em ambientes hospitalares são *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Recentemente destaca-se a espécie oportunista e emergente *C. auris*.

Desde o primeiro relato em 2009, *C. auris* tem sido isolada de pacientes com IRAS em vários países sob forma de candidemia, infecção de ferida cirúrgica ou otite.

A importância de *C. auris* no contexto médico-hospitalar deve-se, no mínimo, a três fatores: característica de multirresistência a antifúngicos de distintas classes de fármacos (azóis, polienos e equinocandinas); potencial para alta transmissão intra-hospitalar de forma direta ou indireta.

Evidências iniciais sugerem que o ambiente pode ser o principal reservatório da *C. auris*, levando a sua disseminação por meio de superfícies e equipamentos contaminados, incluindo os de assistência ao paciente (tais como: estetoscópios, termômetro, esfigmomanômetro etc.), ou, ainda, por contato direto com os pacientes. A persistência e a propagação do fungo, apesar de todas as medidas de prevenção de infecção, indicam uma resiliência às condições ambientais e persistência no ambiente, alta transmissibilidade e capacidade de colonizar rapidamente a pele do paciente e o ambiente próximo a ele. Pacientes podem permanecer colonizados assintomáticos por até 3 meses.

Embora *Candida* seja o patógeno mais habitual entre os fungos leveduriformes causadores de IRAS, outras leveduras emergentes vem sendo isoladas com maior frequência, como *Saccharomyces* spp., *Rhodotorula* spp. e *Trichosporon* spp.. Particularmente em pacientes imunocomprometidos, espécies de *Trichosporon* têm recebido uma crescente atenção como relevante causa de infecções invasivas.

As dificuldades e o atraso concomitante no diagnóstico e tratamento da tricosporonose invasiva são refletidos nas altas taxas de mortalidade de 42% a 87,5%.

RESISTÊNCIA AOS ANTIFÚNGICOS

A incidência crescente de infecções fúngicas invasivas graves provocadas por fungos oportunistas tem sido alvo de constante preocupação, acarretando a busca por tratamentos cada vez mais eficazes e drogas cada vez mais seguras. Atualmente, até o momento, somente 3 classes de drogas antifúngicas estão disponíveis no mercado. O uso terapêutico e profilático de agentes antifúngicos, que frequentemente são administrados por períodos prolongados, tem dado origem a casos de resistência adquirida aos antifúngicos entre as espécies susceptíveis.

Nos últimos anos, casos de *Aspergillus* com resistência a antifúngicos da classe dos azóis têm aumentado, além do uso profilático, em países da Ásia, Europa e mais recentemente no EUA, o uso indiscriminado de antifúngicos desta classe na agricultura tem sido relacionado ao aumento da resistência em isolados ambientais e em alguns casos de resistência cruzada em pacientes com aspergilose pulmonar invasiva, aproximando o conceito de One Health à vigilância da resistência antifúngica.

A resistência aos antifúngicos também pode ser intrínseca, em geral, algumas espécies do gênero *Fusarium* e da Ordem Mucorales, apresentam este tipo de resistência contra a maioria dos antifúngicos disponíveis para tratamento, como itraconazol, voriconazol, posaconazol, equinocandinas e até mesmo para anfotericina B.

Esta resistência também tem sido observada para as leveduras, como nos casos de *Candida glabrata* e recentemente de *C. auris* onde a transmissão aumentou dramaticamente nos anos de 2021 e 2022, em países onde a doença já está instalada há mais tempo, como exemplo, o EUA. O aumento de casos resistentes às equinocandinas (3 vezes mais em relação a 2020) e as evidências de transmissão são particularmente preocupantes porque as equinocandinas são a terapia de primeira linha para infecções invasivas por *Candida*, incluindo *C. auris*. Esses achados destacam a necessidade de práticas aprimoradas de detecção e controle de infecção para evitar a disseminação de *C. auris*. A gravidade da disseminação deste agente pode ser verificada, como exemplo, no Estado da Califórnia, EUA, onde a cada 3 pacientes internados com infecção sistêmica, um vem a óbito. Na maioria dos casos com multirresistência aos antifúngicos.

Em leveduras do gênero *Trichosporon*, somente um número limitado de compostos antifúngicos pode ser utilizado no tratamento das tricosporonose. Os azóis constituem a primeira escolha devido à resistência intrínseca do gênero as equinocandinas e a baixa sensibilidade *in vitro* a anfotericina B.

Assim, monitorar o perfil de resistência aos antifúngicos por meio de técnicas de referência é essencial para detectar a emergência de linhagens resistentes a drogas.

Os testes de sensibilidade aos antifúngicos (TSA) são indicados para fungos que causam infecção especialmente quando a infecção é invasiva, recidivante, quando o tratamento é falho, quando a resistência aos antifúngicos é possível, ou quando a sensibilidade não pode ser predita através da identificação da espécie. O

TSA é também importante para a vigilância de resistência, estudos epidemiológicos e comparação da atividade in vitro dos antifúngicos novos e existentes.

Métodos de diluição são usados para estabelecer as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) ou pontos finais relevantes (por exemplo, as concentrações efetivas mínimas [CEM]) dos antimicrobianos. Eles são os métodos de referência para o teste de sensibilidade aos antimicrobianos, e são usados principalmente para estabelecer a atividade dos novos antifúngicos, para confirmar a sensibilidade dos organismos que apresentam resultados conflitantes em outros testes de sensibilidade (como os testes comerciais), e para determinar a sensibilidade de organismos quando outros testes não são confiáveis ou não foram validados.

ENVIO DE AMOSTRAS AO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

As amostras biológicas e/ou cepas com suspeita de IRAS causadas por fungos deverão ser encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz como descrito na Tabela 1. **As mesmas deverão ser provenientes de sítios estéreis: sangue, líquido, lavado broncoalveolar (LBA), urina e biópsias representativas de sítios estéreis ou órgãos profundos.**

Em casos distintos dos especificados acima, entrar em contato prévio com o Instituto Adolfo Lutz referência para cada região (Tabela 1).

Nos casos em que a unidade de origem realize identificação presuntiva de espécie ou testes de sensibilidade aos antifúngicos por métodos fenotípicos, automatizados ou semi-automatizados, cepas com características atípicas (espécies e/ou perfis de resistência) também deverão ser encaminhados ao IAL para confirmação da identificação e do perfil de sensibilidade por meio do método de microdiluição em caldo (ver fluxograma). **Entrar em contato prévio antes do envio.**

Devem ser encaminhados para os laboratórios de referência para identificação de *C. auris*, isolados de leveduras de pacientes hospitalizados e que tenham sido identificadas por sistema comercial com resultados de acordo como descrito na Tabela 2.

Recomenda-se o envio mensal de no máximo 10 amostras por agravo/unidade requisitante*.

* A possibilidade de alteração nesse quantitativo deverá ser **previamente** acordada com o Instituto Adolfo Lutz.

Tabela 1 – Distribuição dos Laboratórios do Instituto Adolfo Lutz (IAL), Central e Regionais, de acordo com os GVE, para envio de isolados fúngicos com resistência aos antifúngicos.

GVE	IAL
GVE Capital, GVE Osasco GVE Franco da Rocha, GVE Mogi das Cruzes GVE Araçatuba	IAL Central – São Paulo IAL Araçatuba
GVE Bauru	IAL Bauru
GVE Campinas GVE São João da Boa Vista	IAL Campinas
GVE Marília GVE Assis	IAL Marília
GVE Presidente Prudente GVE Presidente Venceslau	IAL Presidente Prudente
GVE Araraquara, GVE Ribeirão Preto GVE Barretos, GVE Franca GVE Piracicaba	IAL Ribeirão Preto IAL Rio Claro
GVE Santo André	IAL Santo André
GVE Santos GVE Registro	IAL Santos
GVE São José do Rio Preto GVE Jales	IAL São José do Rio Preto
GVE Botucatu, GVE Sorocaba GVE Itapeva	IAL Sorocaba
GVE São Jose dos Campos, GVE Taubaté GVE Caraguatatuba	IAL Taubaté

Tabela 2 - Identificação suspeita de *Candida auris* com base em sistemas comerciais.

Método de Identificação	Espécies que podem ser identificadas erroneamente em isolados de <i>C. auris</i>
VITEK 2 YST	<i>Candida haemulonii</i> , <i>Candida duobushaemulonii</i> , <i>Candida</i> spp. não identificada
API 20C	<i>Rhodotorula glutinis</i> (sem coloração vermelha) , <i>Candida sake</i> , <i>Candida</i> spp. não identificada
API ID 32C	<i>Candida intermedia</i> , <i>Candida sake</i> , <i>Saccharomyces kluyveri</i>
BD Phoenix	<i>Candida catenulata</i> , <i>Candida haemulonii</i> , <i>Candida</i> spp. não identificada
MicroScan	<i>Candida lusitanae</i> , <i>Candida guilliermondii</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida famata</i> , <i>Candida</i> spp. não identificada
RapID Yeast Plus	<i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida</i> spp. não identificada
Auxacolor	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Fonte: Adaptado de CDC/EUA

EM CASO DE SUSPEITA DE SURTO DE IRAS, EM GERAL, INDEPENDENTE DO MICRO-ORGANISMO OU PERFIL DE RESISTÊNCIA MICROBIANA:

Notificar a Divisão de Infecção Hospitalar do Centro de Vigilância Epidemiológica (DIH/CVE) pelo sistema eletrônico (http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/not_ih.htm), que irá definir em conjunto com o Instituto Adolfo Lutz, as estratégias de amostragem para análise molecular.

ACONDICIONAMENTO E ENVIO DOS ISOLADOS

Após a coleta, as amostras biológicas devem ser colocadas em recipiente estéril e vedado, em quantidade suficiente (>2 mL ou 0,5 cm³) e no período de coleta apropriado, para permitir todos os procedimentos laboratoriais necessários.

Seguem informações das principais amostras:

- Líquor e líquidos cavitários devem ser coletados sob cuidados de antisepsia antes da punção e enviados em tubo estéril selado hermeticamente e transportados o mais rápido possível, mantidos à temperatura ambiente.
- Sangue e material de punção de medula óssea são os únicos materiais biológicos que devem ser semeados diretamente, em frascos contendo meio de cultura líquido ou bifásico (líquido sobre sólido), de modo a evitar coagulação e consequente diminuição da sensibilidade do exame, o transporte deve ser em temperatura ambiente, e o mais rápido possível ao laboratório.
- Tecidos obtidos por biópsia, necropsia e peças operatórias deverão ser coletados assepticamente, utilizando instrumentos estéreis e colocar o material em recipiente estéril, com salina. Não adicionar nenhum líquido fixador.
- Swabs (coleta de pus, material de abscessos, e outros) devem ser colocados em tubos contendo salina estéril e devem ser transportados o mais rápido

possível e/ou conservados a 4°C durante o prazo de 8 a 10 horas, de modo a evitar a dessecação da amostra.

Nos casos de envio de cepas, um crescimento fúngico recente (18-24h) deverá ser encaminhado em placas contendo agar Sabouraud dextrose com cloranfenicol, ou ágar cromogênico, ou similares, devidamente identificadas, com data e lacradas com parafilm ou fita adesiva.

O cadastro deve ser realizado no sistema GAL. Em “Observações”, ou em memorando à parte, incluir outras informações relevantes, como suspeita fúngica (gênero, espécie, etc); resultados dos testes realizados (testes de sensibilidade, etc.).

5. CONTATOS

Núcleo de Micologia- Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz

Diretor do Núcleo??Centro??

e-mail: parasitologia@ial.sp.gov.br / micologia@ial.sp.gov.br

Telefone: (11) 3068-2890

Laboratório de Micologia e Parasitologia - Núcleo de Ciências Biomédicas - Centro de Laboratórios Regionais – CLR II Bauru

Luciana da Silva Ruiz Menezes

e-mail: bauru.cb@ial.sp.gov.br

Telefone: (14) 3223-1175

Núcleo de Coleção de Micro-organismos - Centro de Procedimentos Interdisciplinares - Instituto Adolfo Lutz

Tânia Sueli de Andrade

e-mail: coleccional@ial.sp.gov.br / tania.andrade@ial.sp.gov.br

Telefone: (11) 3068-2884

Polo Regional de Monitoramento de Micro-organismos Multirresistentes do CLR/Marília (IAL Araçatuba, IAL Bauru, IAL Marília, IAL Presidente Prudente, IAL Ribeirão Preto, IAL São José do Rio Preto)

Doroti de Oliveira Garcia

E-mail: doroti.garcia@ial.sp.gov.br; marilia.cb@ial.sp.gov.br

Telefone: (14) 3433-1488

Centro de Respostas Rápidas – Instituto Adolfo Lutz

Adriano Abbud

E-mail: respostas.rapidas@ial.sp.gov.br

Telefone: (11) 3068- 2850

Divisão de Infecção Hospitalar/CVE

Denise Brandão de Assis

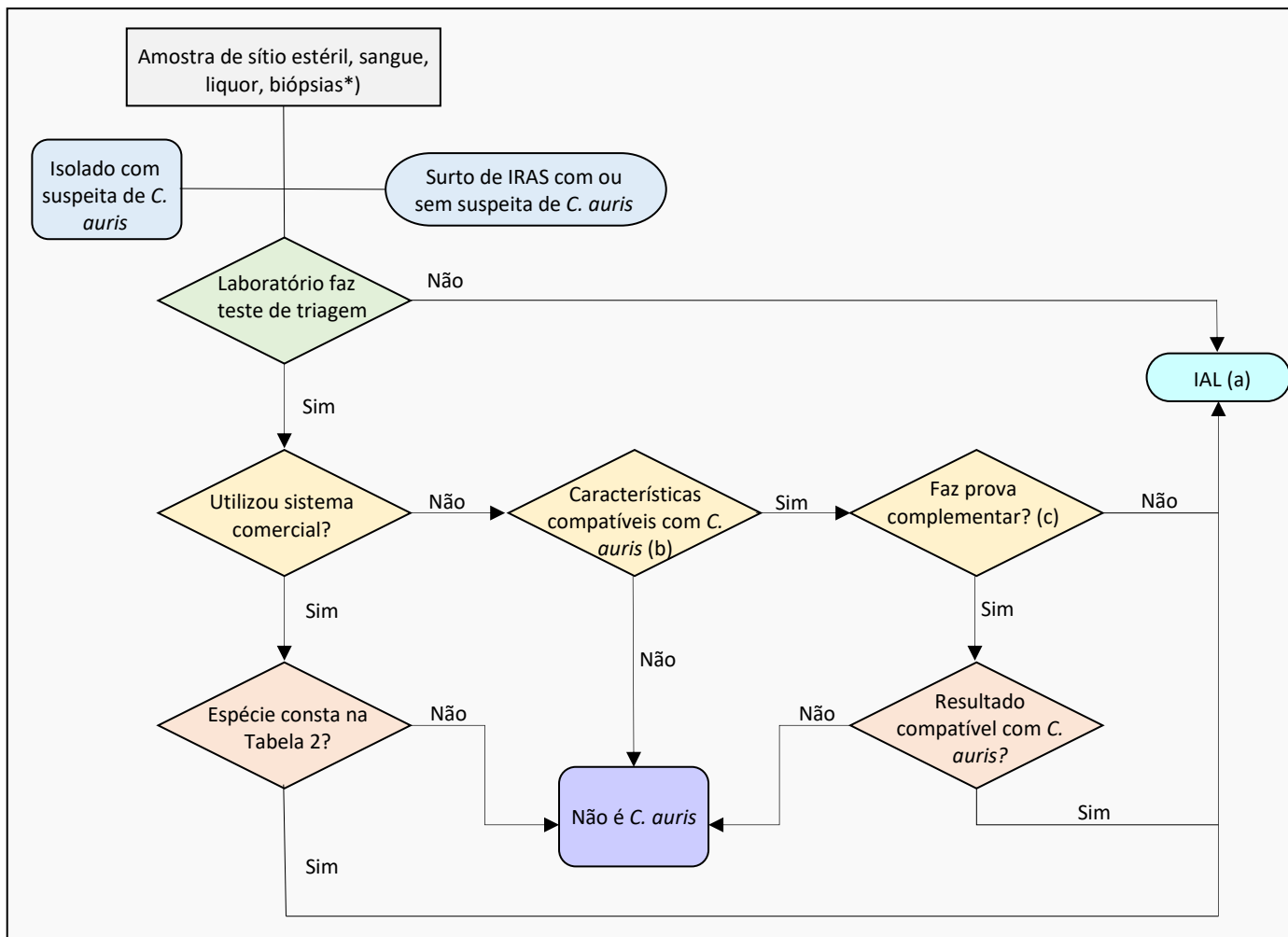
Email: dvhosp@saude.sp.gov.br

Telefones: (11)3066-8759/3066-8261

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah M. S. Al-Hatmi, Jacques F. Meis, and G. Sybren de Hoog. *Fusarium*: Molecular Diversity and Intrinsic Drug Resistance. *PLoS Pathog.* 2016 Apr; 12(4): e1005464.
- Arendrup MC, Meletiadis J, Mouton JW et al. Método para determinação de concentração inibitória mínima em caldo dos agentes antifúngicos para leveduras. BrCAST - EUCAST – Documento definitivo E.DEF. 7.3.2, 2020
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Nota Técnica GVIMS/GGTES/ANVISA Nº 04/2021-Orientações para vigilância, identificação, prevenção e controle de infecções fúngicas invasivas em serviços de saúde no contexto da pandemia da COVID-19, 2021.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária -ANVISA, Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde, Gerência de Vigilância e Monitoramento em Serviços de Saúde . NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES/ANVISA Nº 02/2022. Orientações para identificação, prevenção e controle de infecções por *Candida auris* em serviços de saúde, 2022.
- Chowdhary A, Sharma C, Duggal S, Agarwal K, Prakash A, Singh PK, et al. New clonal strain of *Candida auris*, Delhi, India. *Emerg Infect Dis.* 2013;19:1670–3.
- Chowdhary A, Anil Kumar V, Sharma C, Prakash A, Agarwal K, Babu R, et al. Multidrug-resistant endemic clonal strain of *Candida auris* in India. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33:919–26.
- David W Denning, Antifungal drug resistance: an update. *Eur J Hosp Pharm* 2022;29:109–112.
- Sprute R, Bethe U, Chen SC, Cornely OA. EQUAL *Trichosporon* Score 2022: an ECMM score to measure QUALity of the clinical management of invasive *Trichosporon* infections. *J Antimicrob Chemother.* 2022; 77(6):1779-1784.
- Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) early implementation protocol for the inclusion of *Candida* spp. Geneva: World Health Organization; 2019 (WHO/WSI/AMR/2019.4 Eng).
- Francisco EC, Hagen F. JMM Profile: *Trichosporon* yeasts: from superficial pathogen to threat for haematological-neutropenic patients. *J Med Microbiol.* 2022; 71(12): 001621
- Lee WG, Shin JH, Uh Y, Kang MG, Kim SH, Park KH, et al. First three reported cases of nosocomial fungemia caused by *Candida auris*. *J Clin Microbiol.* 2011;49:3139–42.
- Magobo RE, Corcoran C, Seetharam S, Govender NP. *Candida auris*–associated candidemia, South Africa. *Emerg Infect Dis.* 2014;20:1250–1.
- Okinda N, Kagotho E, Castanheira M, Njuguna A, Omuse G, Makau P, et al. Candidemia at a referral hospital in sub-Saharan Africa: emergence of *Candida auris* as a major pathogen. *European Conference on Clinical Microbiology and Infectious Diseases*; 2014; 10–13.
- WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Geneva: World Health Organization; 2022.

FLUXOGRAMA PARA ENVIO DE CEPAS COM SUSPEITA DE *Candida auris* PARA O INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL)



* Biópsias serão investigadas apenas nos casos de órgãos profundos.

(a) Conforme Tabela 1.

(b) Cor da colônia em ágar Sabouraud dextrose e presença de estruturas microscópicas em ágar Fubá.

(c) Tubo germinativo negativo e/ou ausência de cápsula e/ou urease negativa e/ou crescimento a 42°C e/ou cor em ágar cromogênico creme ou rosa claro e/ou MIC \geq 32mg/L fluconazol.