

Dica dos especialistas:
aprimorando a
implementação e o
gerenciamento do
BrCAST



América Latina

Dica dos especialistas:

aprimorando a implementação e o gerenciamento do BrCAST

DR. ANDRÉ MÁRIO DOI
CRM-SP 121.189

Médico Patologista Clínico.

DRA. MARINÊS DALLA VALLE MARTINO
CRM-SP 49.145

Médica Patologista Clínica.

PAULA CÉLIA MARIKO KOGA
CRF: 1-032310-4

Farmacêutica Bioquímica.

Introdução



O *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, ou BrCAST, é um comitê designado conjuntamente pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC), Sociedade Brasileira de Infectologia (SBI), Sociedade Brasileira de Microbiologia (SBM) e Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial (SBPC/ML) cujo termo de cooperação técnico entre as quatro sociedades foi assinado, inicialmente, em agosto de 2013 e ratificado em outubro de 2018.¹ Esse comitê tem por objetivo principal padronizar a realização e a interpretação do Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA) junto aos laboratórios de microbiologia.²

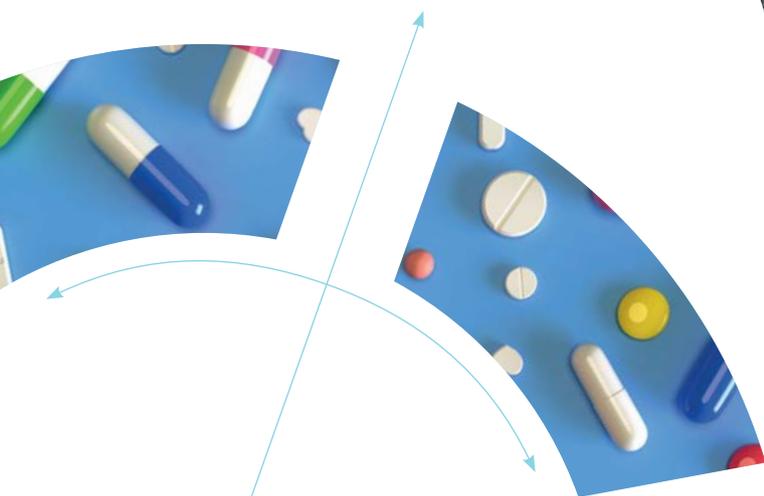
Corroborando as ações do Plano Nacional de Prevenção e Controle da Resistência aos Antimicrobianos no Brasil (PAN-BR) de 2018, o Ministério da Saúde publicou, em 14 de dezembro de 2018, a Portaria nº 64,³ que determina que laboratórios da rede pública e privada, de todas as unidades federadas, utilizem as normas de interpretação dos TSAs tendo como base os documentos da versão brasileira do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST/BrCAST).^{3,4} Tal documento instituiu a padronização oficial no intuito de garantir uniformidade na interpretação do antibiograma no país e universalidade de acesso a documentos técnicos em português atualizados.³

O BrCAST, junto ao Ministério da Saúde, desde a Portaria nº 64, vêm trabalhando para implementação do BrCAST no Brasil.⁵ Desde então, diversos laboratórios no país passaram a adotá-lo como padronização para leitura e interpretação do teste de antimicrobianos.

O presente documento tem por objetivo auxiliar na implementação e utilização dos documentos do BrCAST pelos laboratórios de microbiologia, além de levar o conhecimento para clínicos que utilizam o teste de sensibilidade na beira do leito.

Passo a passo na implementação da padronização do BrCAST⁶

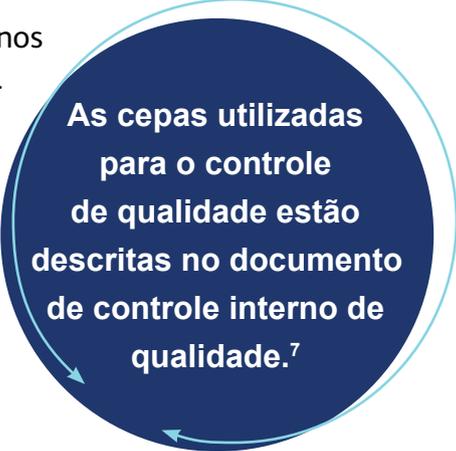
1. Identificar todos os métodos de TSA no laboratório (disco-difusão, sistemas automatizados, testes de gradiente e outros).
2. Identificar um líder entre os colaboradores do laboratório. O líder terá a responsabilidade de gerenciar todo o processo de implementação e, se possível, organizar uma visita técnica a um laboratório que já tenha implementado os pontos de corte de sensibilidade e métodos segundo o BrCAST.
3. Identificar sistemas de apoio que podem ser afetados (acreditação do laboratório, manuais e sistemas de informação do laboratório).
4. Identificar e informar todos os parceiros (colaboradores, clientes / usuários, programas de vigilância de resistência antimicrobiana, comissões de controle de infecções, farmácia e distribuidores de materiais e dispositivos para TSAs); programar compra e estoque de insumos.
5. Certificar-se de que os “materiais para TSA” recomendados pelo BrCAST estão disponíveis.
6. Informar os organizadores dos programas de controle de qualidade externo (PALC, CAP e outros).



O que muda na padronização do BrCAST em relação aos outros documentos?

As principais diferenças a que os laboratórios devem se atentar nos documentos de TSA preconizados pelo BrCAST são: potência de alguns discos de antimicrobianos, temperatura de incubação, meios recomendados para teste de sensibilidade de microrganismos fastidiosos e alguns critérios interpretativos para alguns antimicrobianos (opinião dos autores).

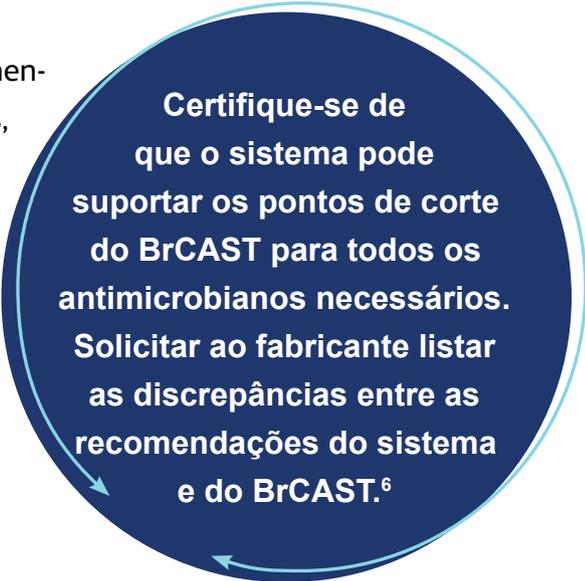
Serão detalhados aqui os principais cuidados na implementação do TSA por disco-difusão e métodos automatizados.⁹



As cepas utilizadas para o controle de qualidade estão descritas no documento de controle interno de qualidade.⁷

Métodos automatizados para o TSA

Para a realização de testes de sensibilidade pelos equipamentos automatizados, são utilizados cartões, placas ou painéis, contendo concentrações preestabelecidas de diversos antimicrobianos. Essa metodologia, geralmente, oferece uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) aproximada (semiquantitativo), pois avalia de duas a quatro diluições para cada antimicrobiano, normalmente em concentrações que correspondam aos limites de sensibilidade e resistência estabelecidos para aquele antimicrobiano.⁸



Certifique-se de que o sistema pode suportar os pontos de corte do BrCAST para todos os antimicrobianos necessários. Solicitar ao fabricante listar as discrepâncias entre as recomendações do sistema e do BrCAST.⁶

Avaliação dos cartões de sensibilidade

Listamos tópicos importantes para os laboratórios que utilizam métodos automatizados para TSA que irão implementar o BrCAST.⁴

1. Comparar os intervalos das CIMs liberadas e disponíveis no cartão ou painel de sensibilidade dos equipamentos com os do BrCAST (*ranges*). Conhecer as limitações de cada cartão, geralmente apresentadas na bula.⁴
2. Para fins de sensibilidade, a concentração de antimicrobianos com inibidores de betalactamases é fixa (p. ex., tazobactam, ácido clavulânico, sulbactam e outros).⁴
3. Realizar a verificação e a validação dos cartões ou painéis de teste de sensibilidade de acordo com as recomendações do BrCAST.⁹
4. Inserir no equipamento os pontos de corte (microorganismo x antimicrobiano), segundo o BrCAST, e configurar as regras de liberação no *software* do equipamento automatizado com a assessoria técnica.⁴

Alerta importante: em 2016, o EUCAST divulgou um alerta com relação ao teste de sensibilidade às polimixinas pelos equipamentos automatizados.¹⁰ Nesse estudo,¹¹ foi observada a ocorrência de erros muito graves (falsa sensibilidade). As fitas de gradiente de concentração também não são recomendadas. Sendo assim, a microdiluição em caldo é o único método válido para realização do teste de sensibilidade a esses antimicrobianos.^{10,11}

Método de disco-difusão (Kirby-Bauer)

O método de disco-difusão é uma das abordagens mais antigas para a realização de TSAs e permanece como um dos mais amplamente utilizados e confiáveis na rotina dos laboratórios clínicos;^{12,13} é adequado para testar a maioria dos patógenos bacterianos, incluindo as bactérias fastidiosas mais comuns; é versátil, se comparado à gama de agentes antimicrobianos que podem ser testados, e não requer equipamento especial.⁹

Cuidados com a implementação do método de disco-difusão (lista de verificação)⁶

- 🕒 O método de disco-difusão do EUCAST baseia-se em um inóculo equivalente a 0,5 de McFarland, que permitirá crescimento confluyente em ágar Müller-Hinton (MH), com ou sem 5% de sangue desfibrinado de cavalo, e 20 mg/L de betanicotinamida adenina dinucleotídeo (β -NAD) (Müller-Hinton fastidioso [MH-F]). No quadro 1, estão listados os meios de cultura utilizados para realização do TSA.⁶
- 🕒 Utilizar, preferencialmente, o método de suspensão direto da colônia, que é apropriado para todos os microrganismos, incluindo os fastidiosos.⁶

Meios de cultura

O meio de cultura para realização do TSA é o MH. Entretanto, para microrganismos fastidiosos, o BrCAST recomenda a utilização do MH-F (MH + 5% de sangue de cavalo desfibrinado + 20 mg/L β -NAD), que permite melhor crescimento e leitura do TSA para bactérias fastidiosas, como, por exemplo, o grupo dos *Streptococcus*, *Haemophilus* spp., *Moraxella* spp. entre outras. No quadro 1, estão listados as principais bactérias e os meios de cultura utilizados.⁹

Quadro 1 – Meios de cultura para a realização do TSA⁹

Microrganismo	Meio
<i>Enterobacterales</i>	MH ágar
<i>Pseudomonas</i> spp.	MH ágar
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	MH ágar
<i>Acinetobacter</i> spp.	MH ágar
<i>Staphylococcus</i> spp.	MH ágar
<i>Enterococcus</i> spp.	MH ágar
<i>Streptococcus</i> grupos A, B, C e G	MH-F ágar
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	MH-F ágar
<i>Streptococcus viridans</i>	MH-F ágar
<i>Haemophilus influenzae</i>	MH-F ágar
<i>Moraxella catarrhalis</i>	MH-F ágar
<i>Listeria monocytogenes</i>	MH-F ágar
<i>Pasteurella multocida</i>	MH-F ágar
<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>coli</i>	MH-F ágar
<i>Aerococcus sanguinicola</i> e <i>urinae</i>	MH-F ágar
<i>Kingella kingae</i>	MH-F ágar
<i>Aeromonas</i> spp.	MH ágar
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	MH ágar
<i>Bacillus</i> spp.	MH ágar
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	MH ágar

Legenda: MH = Müller-Hinton; MH-F = Müller-Hinton + 5% de sangue de cavalo desfibrinado + 20 mg/L β -NAD.

Adaptado de: Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).⁹

Inóculo bacteriano

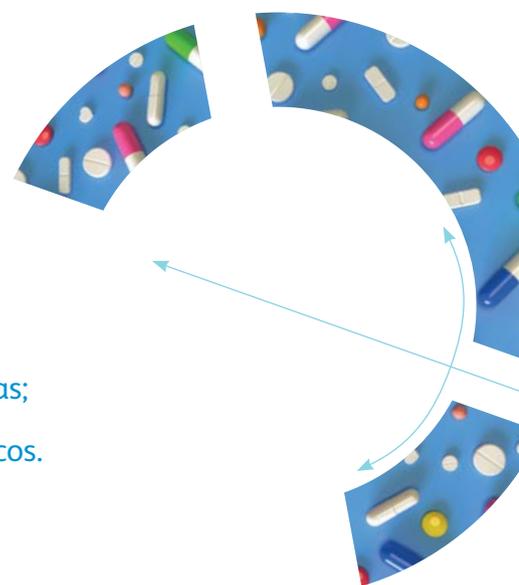
Com relação ao **inóculo bacteriano**, alguns detalhes são importantes e devem ser observados:

1. Ajustar o inóculo de modo a obter turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland adicionando salina ou mais bactéria, de preferência, ajustada em dispositivo de medição fotométrica. O fotômetro deve ser calibrado de acordo com as instruções do fabricante;⁹
2. Como alternativa, a densidade da suspensão pode ser comparada visualmente com a turbidez do padrão 0,5 da escala de McFarland. Para a preparação do padrão de turbidez 0,5 de McFarland, consultar o documento do BrCAST referente ao método de disco-difusão BrCAST-EUCAST;⁹
3. Exceção – *S. pneumoniae* (McFarland 0,5 para cultura obtida em placa de ágar sangue e McFarland 1 para cultura obtida em placa de ágar chocolate);⁹
4. O crescimento deve estar confluyente e uniformemente espalhado sobre o ágar. Um inóculo correto e uma semeadura adequada devem resultar em uma camada confluyente de crescimento e halos de inibição circulares. O inóculo deve estar uniformemente espalhado sobre a superfície do ágar para que se obtenham diâmetros de halos reprodutíveis. Para evitar um inóculo demasiadamente pesado de microrganismos Gram-negativos, deve-se ter especial cuidado ao remover o excesso de fluido do *swab*, girando-o sobre o próprio eixo e pressionando-o contra a parede interna do tubo, acima do nível da suspensão, antes da inoculação da placa.⁹

Regra dos 15' 15' 15'

Para obter resultados reprodutíveis:⁶

- ⌚ Usar o inóculo em até 15 minutos após a preparação;
- ⌚ Aplicar os discos em até 15 minutos após a inoculação das placas;
- ⌚ Iniciar a incubação em até 15 minutos após a aplicação dos discos.



Discos de antimicrobianos

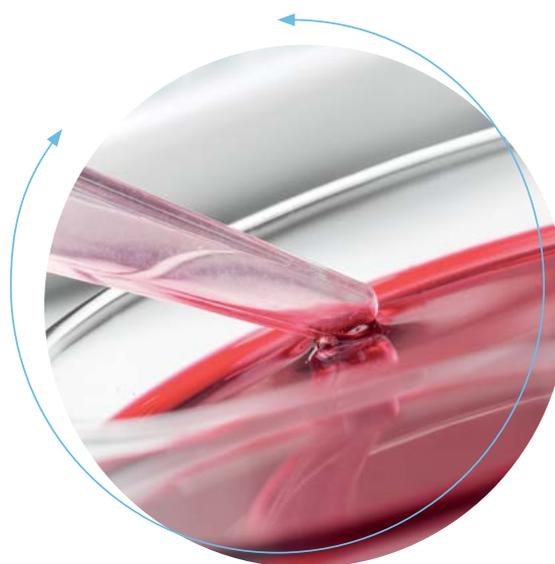
Alguns discos de antimicrobianos recomendados pelo BrCAST podem ser diferentes daqueles descritos em outros documentos, como o do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, do inglês *Clinical and Laboratory Standards Institute*), principalmente em relação à potência do antimicrobiano. **A tabela 1** contém a lista dos discos preconizados pelo BrCAST.^{6,14}

Tabela 1 – Discos recomendados pelo BrCAST e com conteúdo distinto daqueles recomendados pelo CLSI⁶

Antimicrobiano	Microrganismo	Conteúdo Disco EUCAST	Conteúdo Disco CLSI
Amoxicilina-ácido clavulânico	<i>Haemophilus</i> spp. e <i>Moraxella catarrhalis</i>	2 µg - 1 µg	20 µg - 10 µg
Ampicilina	Todos para os quais o teste está indicado.	2 µg	10 µg
	EXCETO ao testar <i>Enterobacterales</i> quando é utilizado o disco de 10 µg.	2 µg	10 µg
Cefotaxima	Todos para os quais o teste está indicado.	5 µg	30 µg
Ceftarolina	Todos para os quais o teste está indicado.	5 µg	30 µg
Ceftazidima	Todos para os quais o teste está indicado.	10 µg	30 µg
Gentamicina (alto nível)	<i>Enterococcus</i> spp.	30 µg	120 µg
Nitrofurantóina	Todos para os quais o teste está indicado.	100 µg	300 µg
Penicilina	Todos para os quais o teste está indicado.	1 U	10 U

Adaptado de: Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).⁶

Atenção: lembrar-se de descontinuar os discos de antimicrobianos que não serão utilizados no teste de sensibilidade de acordo com as recomendações do BrCAST (opinião dos autores).

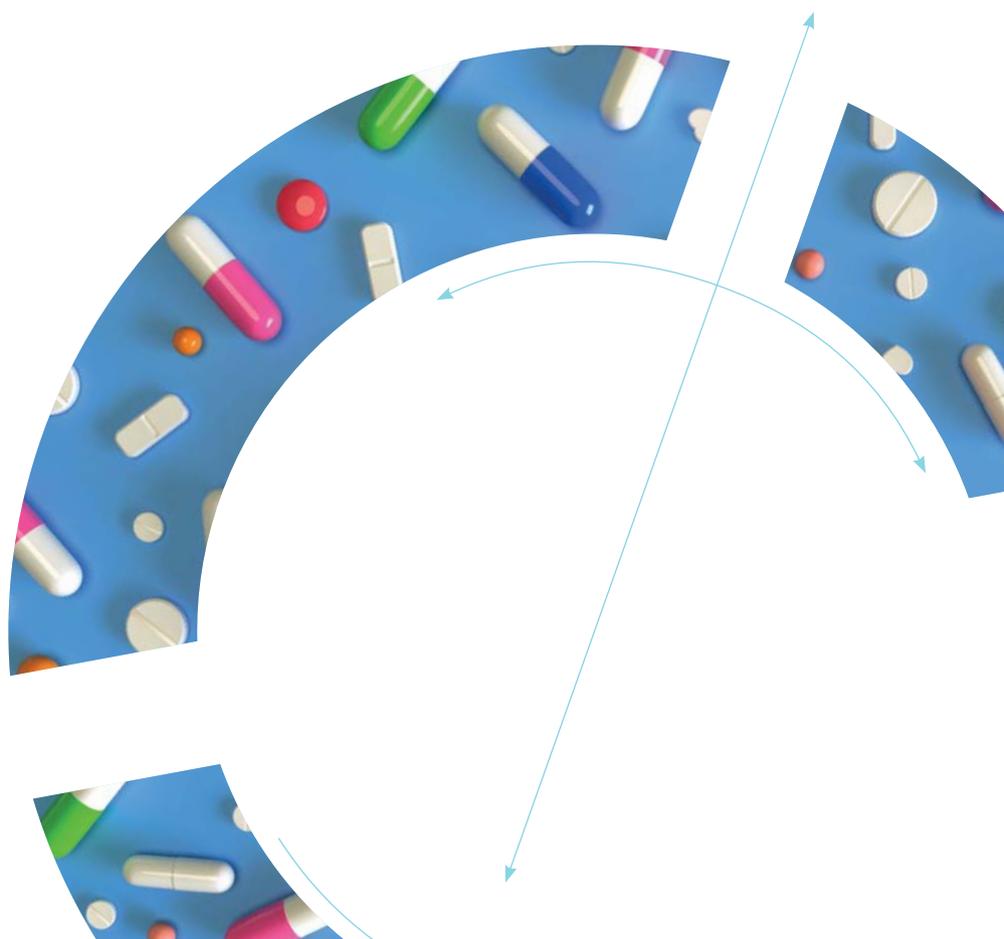


Tempo de incubação e instruções de leitura

Não diminuir ou prolongar o tempo de incubação (16 h – 20 h), exceto quando estiver expressamente indicado nas tabelas, a exemplo de *Corynebacterium* spp.⁶

Importante – seguir as instruções para a leitura:¹⁵

- ⌚ As bordas dos halos de inibição devem ser lidas no ponto de completa inibição do crescimento, avaliado a olho nu;
- ⌚ Ler as placas de ágar MH não suplementadas pelo seu fundo, com luz refletida, contra um fundo escuro;
- ⌚ Ler as placas de ágar MH suplementadas (sangue desfibrinado de cavalo e 20 mg/L de β -NAD) com a tampa removida, observando a superfície contendo os discos, sob luz refletida.



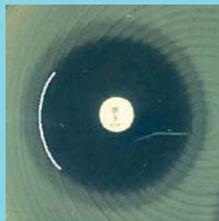
Instruções de leitura específicas para determinados grupos de microrganismos / agentes antimicrobianos¹⁵

Para *Proteus* spp., ignorar o véu (*swarming*) e ler o halo de inibição do crescimento.¹⁵



Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁵

Para sulfametoxazol-trimetoprima ou trimetoprima, pode aparecer um crescimento reduzido dentro do halo de inibição até o disco devido à presença de antagonistas no meio. Esse crescimento e o diâmetro do halo aferido na borda mais nítida devem ser ignorados.¹⁵



E. coli



Staphylococcus
coagulase negativo



Moraxella



Haemophilus

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁵

Para *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* e *Burkholderia pseudomallei*, ao testar sulfametoxazol-trimetoprima, ignorar o crescimento no interior do halo de inibição. Mesmo quando esse crescimento for substancial, ler a borda externa e interpretar de acordo com os pontos de corte. Se houver crescimento até o disco e nenhum sinal de halo de inibição, reportar como resistente.¹⁵

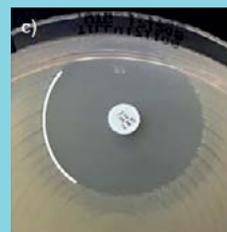
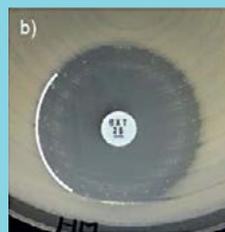
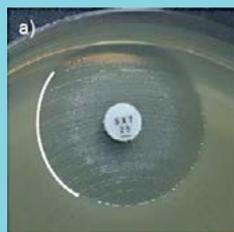


Um halo externo de inibição pode ser visualizado

Crescimento próximo ao disco

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁵

Para *Aeromonas* spp., ao testar sulfametoxazol-trimetoprima, ler a borda bem definida e desconsiderar a névoa ou o crescimento discreto dentro do halo de inibição. Se houver um halo interno com borda bem definida, lê-lo como halo de inibição.¹⁵



Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁵



Para *Enterobacterales*, ao testar ampicilina, ampicilina-sulbactam e amoxicilina-ácido clavulânico, ignorar o discreto crescimento que pode aparecer como um halo interno em alguns lotes de ágar MH.¹⁵

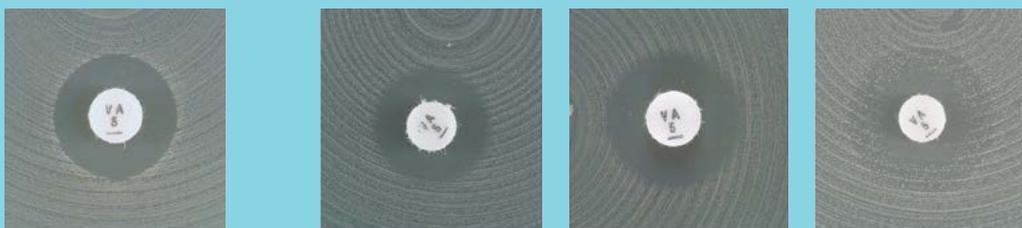
Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁵



Para *Escherichia coli* e fosfomicina, não considerar as colônias dentro do halo de inibição e efetuar a leitura na borda externa do halo.¹⁵

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁵

Para *Enterococcus* spp., ao testar vancomicina, inspecionar as bordas do halo de inibição cuidadosamente com a placa contra a luz (luz transmitida). Bordas regulares e com halo de inibição ≥ 12 mm, reportar como sensível. Bordas irregulares e colônias dentro do halo de inibição indicam resistência à vancomicina e devem ser investigadas. Os halos não podem ser reportados sensíveis antes de 24 horas de incubação.¹⁵



Não VRE

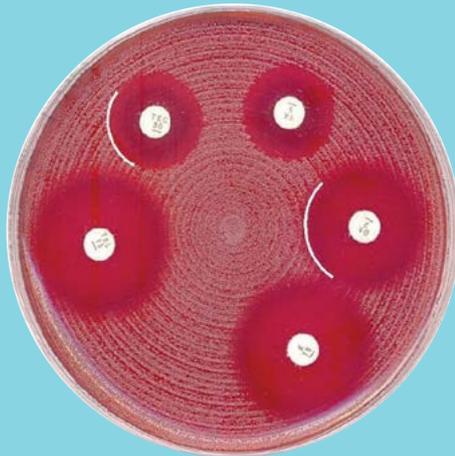
VRE

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁵

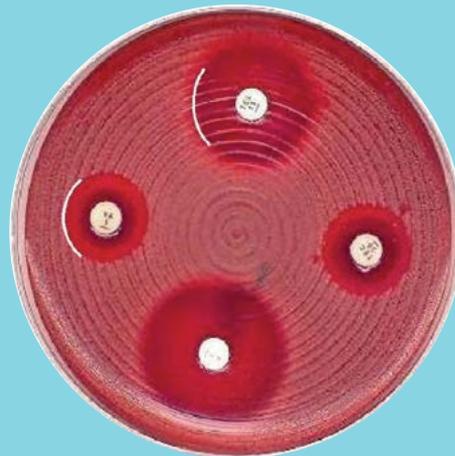
VRE, *Enterococcus* resistente à vancomicina



Para *Streptococcus* beta-hemolíticos, ler a inibição de crescimento e não inibição ocasionada pela hemólise. A beta-hemólise é, usualmente, livre de crescimento, enquanto a alfa-hemólise e o crescimento em geral coincidem. Inclinando a placa para frente e para trás a fim de diferenciar melhor a hemólise de crescimento.¹⁵



Streptococcus pyogenes



Streptococcus do grupo C

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁵



Para *Haemophilus influenzae* e agentes betalactâmicos, ler a borda externa do halo de inibição e desconsiderar a área de crescimento ao redor do disco.¹⁵

Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁵

Controle de qualidade no TSA

Os documentos do Controle de Qualidade (CQ) do BrCAST-EUCAST podem ser encontrados na íntegra como um documento apartado no *site*,^{4,7,9} mas várias considerações em relação a esse tema estão referendadas em outros tópicos do BrCAST.

Conceitos importantes em CQ¹⁶

VERIFICAÇÃO: processo que determina ou confirma o desempenho esperado do teste antes da implementação na rotina clínica.¹⁶

VALIDAÇÃO: processo de monitoração desse teste, procedimento ou método que garante a continuidade do desempenho esperado.¹⁶

Em ambos processos, devem ser utilizadas cepas-controle provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC), *National Collection of Type Cultures* (NCTC) e de outros órgãos de referência. Uma vez adquiridas, essas cepas devem ser replicadas e mantidas dentro de critérios bem estabelecidos, e também há uma exigência de realizar o controle da geração em que essa cepa se encontra.⁹

As cepas recomendadas para o CQ são:^{7,9}

- ④ *E. coli* ATCC 25922 (ou alternativamente NCTC 12241);
- ④ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (ou NCTC 12903);
- ④ *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (ou NCTC 12903);
- ④ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (ou NCTC 12697);
- ④ *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 (ou NCTC 12977);
- ④ *Haemophilus influenzae* ATCC 49766 (NCTC 12975);
- ④ *Campylobacter jejuni* ATCC 33560 (NCTC 11351).

Em situações específicas, são acrescentadas algumas cepas para testagem de antimicrobianos não cobertos pelas cepas anteriores; como exemplo, tem-se a recomendação de *Escherichia coli* NCTC 13846 para o CQ da polimixina.⁹

O BrCAST recomenda que o CQ seja feito, pelo menos, semanalmente, porém, para chegar a essa periodicidade, deve-se fazer uma validação inicial com 20 testes para cada combinação antibiótico *versus* cepa-padrão.⁹

Para diminuir o tempo de liberação do CQ, os testes podem ser agrupados em quatro dias, com cinco testes diários – o ideal é que sejam em turnos diferentes e com executores também diferentes. Do ponto de vista prático, é preferível fazer os testes de segunda-feira a quinta-feira para que a última leitura seja feita na sexta-feira e não haja comprometimento da rotina de final de semana no laboratório.⁹

A liberação do CQ, para ser realizado semanalmente, **aceita não mais que um valor fora do CQ** da combinação cepa-padrão *versus* droga.⁹

Com duas drogas fora do padrão, pode-se acrescentar mais dez testes, divididos em dois dias. Nesse fluxo, **não se aceita nenhum teste fora do intervalo de referência.**¹⁷

Quando três ou mais testes estão fora do intervalo de referência, deve-se iniciar uma investigação de possíveis fatores, como: meio de cultura, discos, meio entre outros.¹⁷

À medida que os testes de CQ vão sendo feitos semanalmente, deve-se fazer uma planilha e plotar os resultados. A média dos dez últimos resultados de CIM deve ser igual ao valor-alvo estabelecido; para a disco-difusão, a média dos diâmetros dos halos de inibição deve ser próxima ao valor-alvo (± 1 mm do alvo).⁹

Tomando como exemplos a **tabela 2** e a associação amoxicilina-ácido clavulânico para um método de determinação de CIM, além de o CQ estar entre 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ou entre 18 mm e 24 mm em método de disco-difusão, a avaliação dos últimos dez controles realizados deve ser comparada ao alvo (4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ou 21 mm, dependendo do método).^{9,16}

Tabela 2 – CQ da *Escherichia coli* ATCC25922⁷

CQ de rotina

Escherichia coli ATCC 25922

(NCTC 12241, CIP 76.24, DSM 1103, CUG 17620, CECT 434)

Consultar tabelas de pontos de corte do BrCAST-EUCAST para a descrição resumida dos métodos de CIM e disco-difusão.

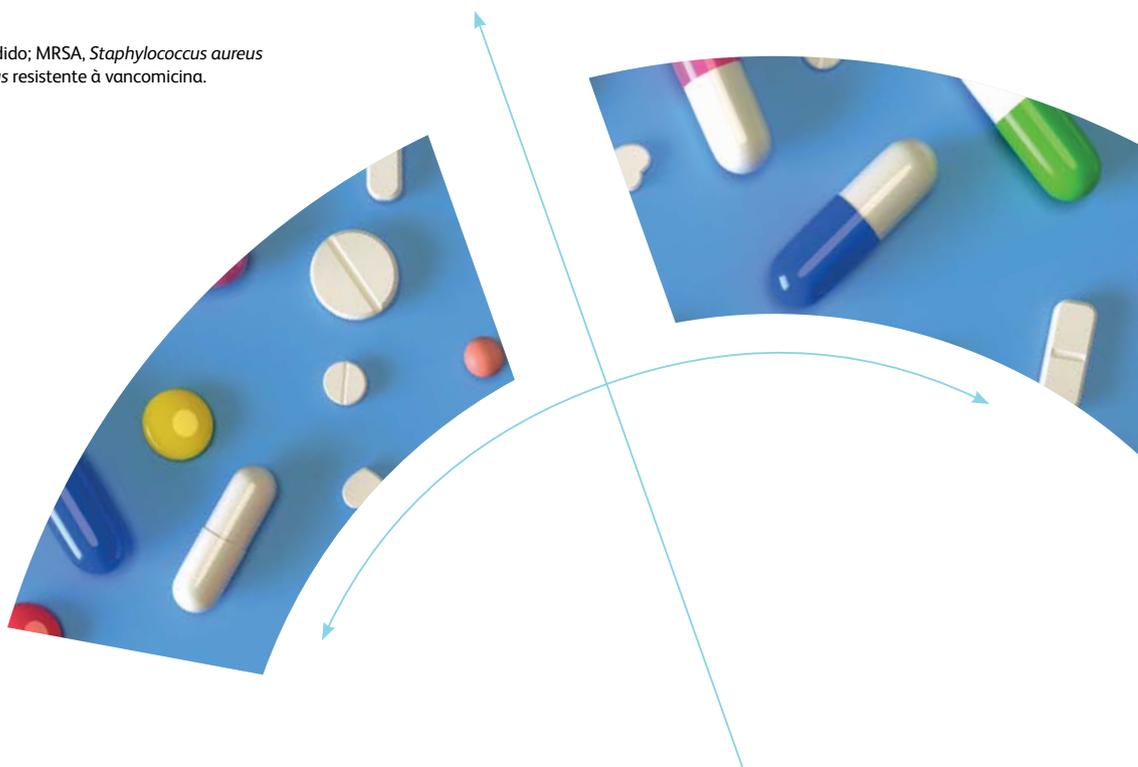
Agente antimicrobiano	CIM (mg/L)		Conteúdo do disco (µg)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
	Alvo ¹	Intervalo ²		Alvo ¹	Intervalo ²
Ácido nalidíxico	2	1-4	30	25	22-28
Amicacina	1-2	0,5-4	30	22-23	19-26
Amoxicilina	4	2-8	-	-	-
Amoxicilina-ácido clavulânico ^{3,4}	4	2-8	20-10	21	18-245

Tabelas de CQ BrCAST-EUCAST v. 11.0 de 1/1/2021
Versão para o português válida a partir de 20/3/2021

Adaptado de: Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).⁷

Além do CQ de rotina, considerar cepas para avaliar mecanismos de resistência específicos, como ESBL, MRSA e VRE. Esse CQ, que é denominado específico, não segue a mesma periodicidade do CQ de rotina (realizado mensalmente ou quando houver mudança em insumos).¹⁶

ESBL, betalactamase de espectro estendido; MRSA, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina; VRE, *Enterococcus* resistente à vancomicina.



Novos conceitos no TSA

- ❏ **Sensível dose-padrão (S):** um microrganismo é categorizado como sensível dose-padrão quando há alta probabilidade de sucesso terapêutico utilizando um regime de dosagem-padrão do antimicrobiano.¹⁸
- ❏ **Sensível aumentando exposição (I):** categoria representada pela letra “I” no antibiograma. Um microrganismo é categorizado como sensível aumentando exposição quando há elevada probabilidade de sucesso terapêutico, porque **a exposição ao antimicrobiano é aumentada** pelo ajuste do regime de dosagem ou por aumento de sua concentração no local da infecção.¹⁸
- ❏ **Área de Incerteza Técnica (AIT):** representa intervalo definido de CIM ou halo de inibição (sobreposição entre organismos sensíveis e resistentes) cuja interpretação é duvidosa. O termo AIT no teste de sensibilidade deve advertir o laboratório da incerteza do resultado do TSA.¹⁸



Sensível aumentando exposição (I)

Um microrganismo é categorizado como sensível aumentando exposição quando há **elevada probabilidade de sucesso terapêutico, porque a exposição ao antimicrobiano é aumentada pelo ajuste do regime de dosagem ou por aumento de sua concentração no local da infecção.**¹⁸

A **dose** é a quantidade do antimicrobiano administrada ao paciente. Já a **exposição** inclui: dose, modo de administração, farmacocinética geral e farmacocinética no local da infecção. As doses para as quais os pontos de corte foram revisados para corresponder às novas definições estão listadas em um documento específico (BrCAST: pontos de corte clínicos e dosagem de antibióticos) e também fazem parte da tabela de pontos de corte.¹⁸

No caso de isolados categorizados como **intermediário (I)**, uma maior concentração do antimicrobiano deve ser utilizada aumentando a dose ou o tempo de sua infusão para atingir a concentração adequada para garantir a chance de sucesso clínico. Isso tem por objetivo ter maior segurança no uso do antimicrobiano no tratamento da infecção.¹⁸

As novas definições dos pontos de corte ressaltam que, em vez de dois níveis de resistência (antigos I e R), passamos a ter dois níveis de sensibilidade (novos I e S). **O I não é pior que o S**, apenas indica que uma exposição do antimicrobiano é necessária para aumentar a probabilidade de sucesso terapêutico diante de certos isolados. Isso visa a garantir segurança do uso do antimicrobiano para o paciente e uso adequado na tentativa de poupar antibióticos com espectro maior. (Opinião dos autores.)

Para alguns microrganismos, a depender do antimicrobiano testado, a interpretação dos pontos de corte não permitirá ao laboratório liberar um isolado como sensível dose-padrão. Nesses casos, pela segurança do paciente, será possível liberar apenas sensível aumentando exposição ou resistente.¹⁸

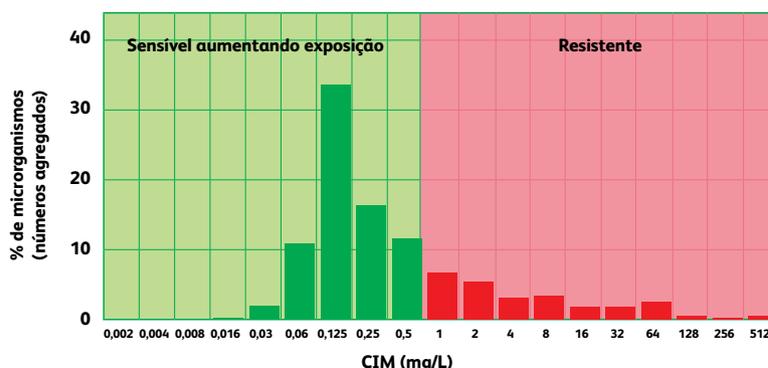
No gráfico 1, segue um exemplo de *Pseudomonas aeruginosa* versus ciprofloxacino em que apenas as categorias sensível aumentando exposição e resistente serão passíveis de liberação.

Gráfico 1 – Ciprofloxacino / *Pseudomonas aeruginosa*¹⁸

Ciprofloxacino / *Pseudomonas aeruginosa*

Distribuição da CIM internacional – base de dados de referência 25/8/2021
Baseada em distribuição agregada.

Distribuição da CIM inclui dados coletados de diferentes centros, regiões geográficas, períodos, e não podem ser utilizados como taxas de resistência.



CIM

Ponto de corte epidemiológico (ECOFF): 0,5 mg/L
Microrganismos selvagens ≤ 0,5 mg/L

Intervalo de confiança

27.836 observações
(71 bases de dados)

Adaptado de: Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁸

Distribuição da CIM: pontos de corte epidemiológico evidenciando que, para *Pseudomonas aeruginosa* e ciprofloxacino, só é possível liberar a categoria I ou R.¹⁸

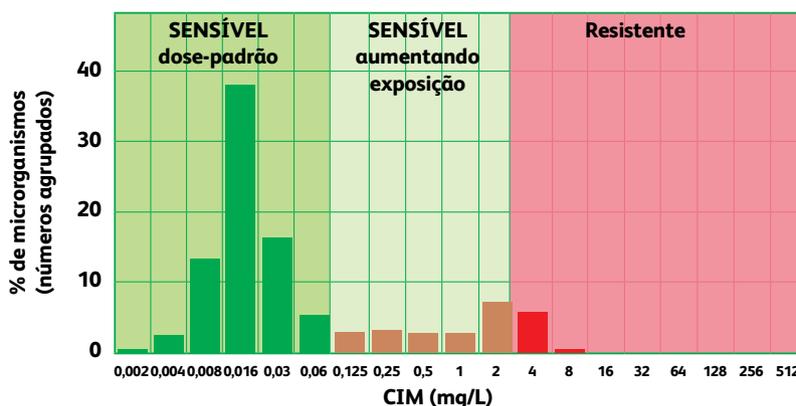
Para a maioria dos agentes / antimicrobianos, as três categorias são mantidas e poderão ser liberadas (gráfico 2).

Gráfico 2 – Benzilpenicilina / *Streptococcus pneumoniae*¹⁸

Benzilpenicilina / *Streptococcus pneumoniae*

Distribuição da CIM internacional – base de dados de referência 26/8/2021
Baseada em distribuição agregada.

Distribuição da CIM inclui dados coletados de diferentes centros, regiões geográficas, períodos, e não podem ser utilizados como taxas de resistência.



CIM

Ponto de corte epidemiológico (ECOFF): 0,064 mg/L
Microrganismos selvagens ≤ 0,064 mg/L (sem mecanismos de resistência)

Intervalo de confiança

36.281 observações
(33 bases de dados)

Adaptado de: Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).¹⁸

Distribuição da CIM: pontos de corte epidemiológico evidenciando que, para *Streptococcus pneumoniae* e benzilpenicilina, é possível a liberação das três categorias – S/I/R.¹⁸

Área de Incerteza Técnica (AIT)

A Área de Incerteza Técnica (AIT) foi introduzida em 2019 para a microbiologia, especificamente pelo EUCAST, para os testes de sensibilidade.¹⁷ O primeiro aspecto que deve ser reforçado é que essa denominação não se trata de uma categoria de interpretação desses testes, mas de um resultado que, por uma série de variáveis, deve ser tratado pelo laboratório de microbiologia antes de ser liberado.¹⁸



Para entendermos melhor, podemos fazer uma analogia da AIT com o que chamamos nos testes sorológicos **zona cinzenta**, cujos resultados são liberados como indeterminados. Como não podemos liberar indeterminado no TSA, foi criado o conceito AIT. (Opinião dos autores.)

Com relação ao encontro de variações que ocorrem no teste de sensibilidade, devem ser consideradas as variáveis aleatórias e as sistemáticas. Assim, devemos entender que as variáveis aleatórias devem ser reduzidas quanto possível e as sistemáticas, evitadas.¹⁸

A redução das variáveis inclui:

- 1. Recomendação de métodos padronizados para a determinação da CIM e de disco-difusão evitando a criação de pontos de corte que afetem seriamente a reprodutibilidade do teste;¹⁸
- 2. Estabelecimento de padrões mais rigorosos para os fabricantes de insumos para os TSAs, incluindo caldo, ágar e discos de antimicrobianos;¹⁸
- 3. Adoção de critérios para o controle de processos de fabricação e práticas de laboratório.⁹

Quando se trabalha na rotina do laboratório, é comum observar essas variações ocorrerem em diferentes dias de rotina. Também podem estar associadas a diferentes profissionais que executam o teste.¹⁸

Outro ponto de atenção é relacionado à qualidade dos insumos adquiridos pelo laboratório, como: discos, painéis automatizados e destinados à realização de microdiluição, fitas de gradiente.¹⁸

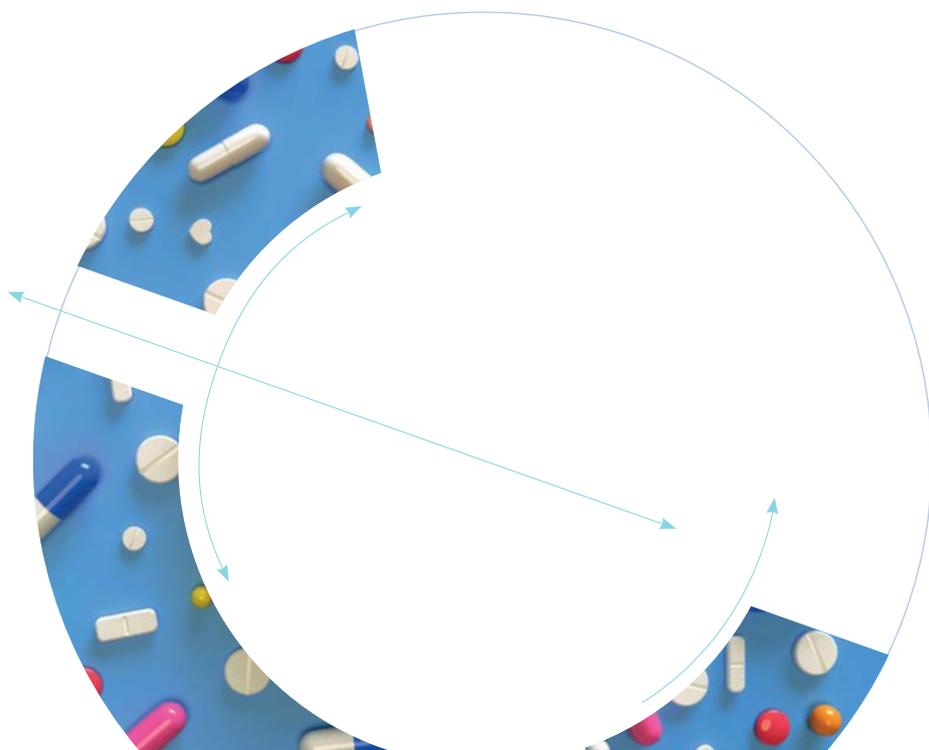
A AIT não impede a liberação do resultado, mas indica que o resultado obtido deve ser tratado antes da liberação. (Opinião dos autores.)

Para exemplificarmos, podemos observar a tabela 3 em que temos para ciprofloxacino o valor AIT = 0,5 µg/mL. Porém esse mesmo valor coincide na tabela de pontos de corte com a legenda “I”, portanto deve ser interpretado como sensível aumentando a exposição. Dessa forma, poderia ser liberado como sensível aumentando exposição.⁴

Tabela 3 – Pontos de corte clínicos do BrCAST para *Enterobacteriales* e ciprofloxacino⁴

Fluoroquinolona	Ponto de corte para CIM (mg/L)				Conteúdo do disco (µg)	Ponto de corte para diâmetro do halo (mm)			
	S ≤	I	R >	AIT		S ≥	I	R <	AIT
Ciprofloxacino	0,25	0,5	> 0,5	0,5	5	25	22-24	< 22	22-24

Adaptado de: Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).⁴



A escolha de um antimicrobiano, cujo halo de inibição ou CIM esteja dentro da zona de AIT, deve considerar aspectos importantes, como:

- ④ Tipo de amostra (hemocultura *versus* cultura de urina) – no caso de urina, por exemplo, a liberação de antimicrobianos que compõem um painel urinário pode ser suficiente, e a interpretação pode ser omitida;*
- ④ Número de agentes alternativos disponíveis – necessário avaliar o quanto de fato um antimicrobiano específico é importante para o tratamento do paciente. A interpretação pode ser omitida desde que outras opções terapêuticas estejam sensíveis e possam ser utilizadas;*
- ④ Gravidade da doença – nesse caso, muitas vezes, não há uma chance de acompanhar a evolução do paciente para, eventualmente, avaliar uma troca da antibioticoterapia;*
- ④ Viabilidade de discussão com clínicos ou não – muitas vezes, esse é um momento em que o verdadeiro papel do laboratório clínico é utilizado em sua plenitude, chegando à discussão do caso e avaliando alternativas terapêuticas;*
- ④ Repetição do teste – para que essa decisão seja tomada, é necessário que esteja bem clara a possibilidade de uma falha na execução do teste como um todo;*
- ④ Utilização de um teste alternativo – quando se espera que um outro método possa fornecer resultados mais confiáveis;*
- ④ Análise das vantagens em modificar a categoria de sensibilidade – muitas vezes, é preferível classificar em uma categoria mais resistente a correr o risco de indicar uma droga inadequada. Nesse caso, é aceitável, por exemplo, fazer uma mudança de I para R;*
- ④ Inclusão da incerteza como parte do laudo – essa observação pode ser colocada como uma nota explicativa;*
- ④ Possibilidade de omissão de um resultado caso seja julgado incerto – é o caso em que, quando se avalia o antibiograma como um todo, outras possibilidades terapêuticas são encontradas. Assim, é preferível retirar um antibiótico a liberar um resultado duvidoso.*

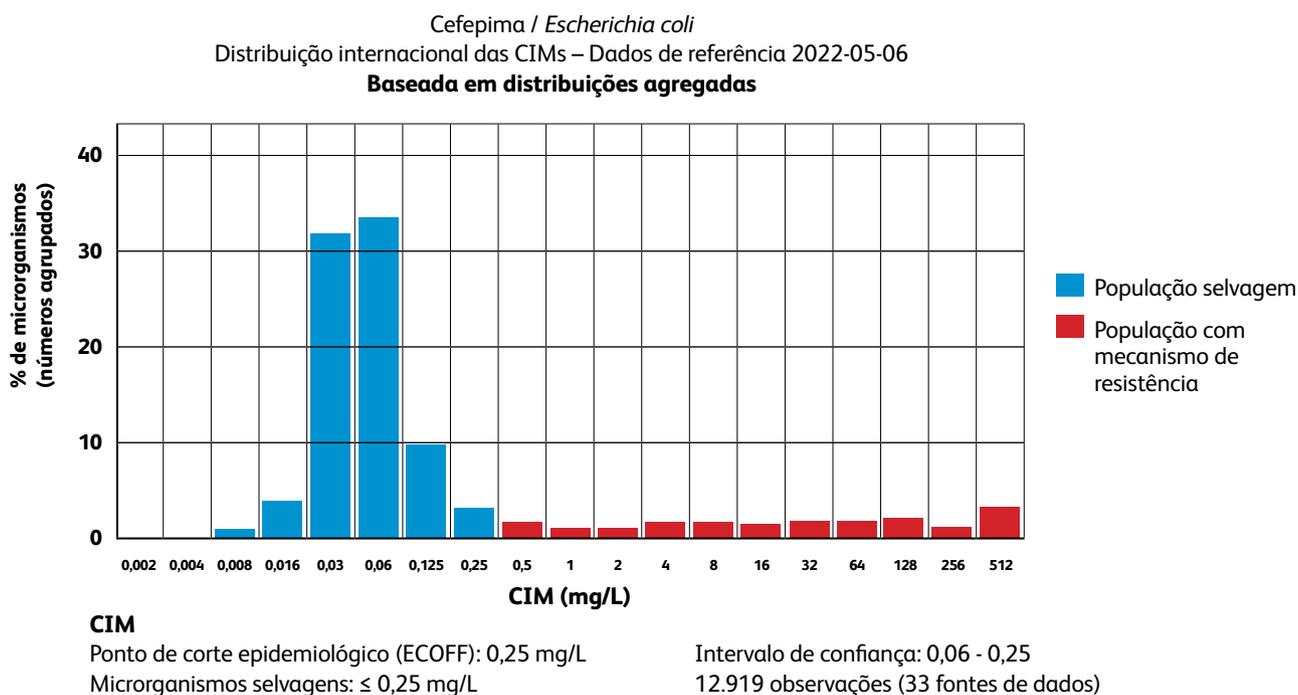
*Opinião dos autores. A comunicação entre o laboratório de microbiologia e o infectologista ou médico assistente e a CCIH é fundamental para essas boas práticas microbiológicas/laboratoriais.

Microrganismos sem pontos de corte definidos e tabelas de ponto de corte PK/PD

A determinação de pontos de corte para microrganismos / agentes antimicrobianos baseia-se, principalmente, em três importantes pilares:

- Distribuição de CIMs ou halos de inibição dos antimicrobianos para uma coleção de microrganismos em que seja possível separar uma população de microrganismos selvagens, sem mecanismos de resistência, da população com algum mecanismo de resistência caracterizado, os chamados pontos de corte epidemiológicos ou ECOFF (gráfico 3);¹⁹
- Estudos de farmacocinética e farmacodinâmica que consigam estabelecer a concentração do antimicrobiano na corrente sanguínea;¹⁹
- Estudos clínicos que avaliem desfecho clínico em relação à dose utilizada do antimicrobiano e respectiva CIM.¹⁹

Gráfico 3 – Exemplo de pontos de corte epidemiológico para cefepima e *Escherichia coli*²⁰



Adaptado de: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).²⁰

Entretanto existem alguns grupos bacterianos e agentes antimicrobianos para os quais o EUCAST não determinou os pontos de corte.²¹ Isso pode ocorrer diante de algumas situações específicas, como:

- ④ Antimicrobianos antigos que foram substituídos por agentes mais modernos (p. ex., canamicina);²²
- ④ Espécies raramente isoladas cujos pontos de corte epidemiológicos não podem ser estabelecidos (p. ex., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Campylobacter* spp., exceto *C. jejuni* e *C. coli*);²²
- ④ Antimicrobianos cujo teste de sensibilidade diante de determinados microrganismos não apresenta boa reprodutibilidade;²²
- ④ Microrganismos cujos pontos de corte ainda não foram estabelecidos, mas que estão sendo avaliados e, eventualmente, poderão ser determinados.²²

Nessas situações, o BrCAST/EUCAST recomenda a utilização das tabelas de ponto de corte de PK/PD não relacionadas a espécies bacterianas. Esses pontos de corte são baseados em estudos de PK/PD que definem a concentração sérica para cada antimicrobiano.²²

Para alguns microrganismos sem pontos de corte definidos, o BrCAST/EUCAST recomenda que seja realizada a determinação da CIM para o antimicrobiano em questão, necessariamente utilizando um método reprodutível que consiga marcar essa concentração inibitória (macrodiluição / microdiluição em caldo, microdiluição em ágar ou fitas de gradiente de concentração).²²

Caso a CIM seja menor ou igual ao ponto de corte PK-PD (sensível), indicar que o uso do antimicrobiano deve ser realizado com cautela. Nesse caso, deve constar uma nota no laudo de que a orientação se baseia nos pontos de corte PK-PD. Entretanto, caso a CIM seja maior que o ponto de corte PK-PD, o uso do antimicrobiano deve ser desaconselhado.²²

Referências bibliográficas

1. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) [Internet]. Termo de ratificação do acordo de cooperação técnico-científico do BrCAST. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>. [Acessado em Outubro de 2021].
2. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) [Internet]. Missão e objetivo. Disponível em: <http://brcast.org.br/missao-e-objetivo/>. [Acessado em Outubro de 2021].
3. Brasil, Diário Oficial da União, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria nº 64, de 11 de dezembro de 2018. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/55217765/do1-2018-12-14-portaria-n-64-de-11-de-dezembro-de-2018-55217696. [Acessado em Outubro de 2021].
4. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) [Internet]. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>. [Acessado em Outubro de 2021].
5. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública. Vigilância laboratorial da AMR no Brasil. A importância da padronização da norma de interpretação dos TSA 2019. Disponível em: <http://brcast.org.br/wp-content/uploads/2019/10/BrCASTMinisteriodaSaude.pdf>. [Acessado em Novembro de 2021].
6. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) [Internet]. Lista de verificação para facilitar a implementação dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos com os pontos de corte do EUCAST. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>. [Acessado em Outubro de 2021].
7. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) [Internet]. Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos. Controle interno de qualidade de rotina e estendido para a determinação da CIM e disco-difusão conforme recomendações do BrCAST-EUCAST. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>. [Acessado em Outubro de 2021].
8. Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobuti NR, Scheffer MC. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. 4. ed. São Paulo: Sarvier; 2020. 756 p.
9. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) [Internet]. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Método de disco-difusão BrCAST-EUCAST. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>. [Acessado em Outubro de 2021].
10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [Internet]. Antimicrobial susceptibility testing of colistin – problems detected with several commercially available products. Disponível em: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Warnings/Warnings_docs/Warning_-_colistin_AST.pdf. [Acessado em Novembro de 2021].
11. Matuschek E, Åhman J, Webster C, Kahlmeter G. Antimicrobial susceptibility testing of colistin – evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. *Clin Microbiol Infect*. 2018 Aug;24(8):865-70.
12. Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Módulo 10 – Detecção dos principais mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos pelo laboratório de microbiologia clínica [Internet]. Brasília: Anvisa; 2020. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-10_manual-de-microbiologia.pdf. [Acessado em Novembro de 2021].
13. Khan ZA, Siddiqui MF, Park S. Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing. *Diagnostics (Basel)*. 2019 May 3;9(2):49.
14. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) [Internet]. CLSI M100-ED31:2021 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 31st edition, 2021. Disponível em: <http://em100.edaptivedocs.net/Login.aspx>. [Acessado em Novembro de 2021].
15. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) [Internet]. Guia de leitura. Método de disco-difusão para teste de sensibilidade aos antimicrobianos do BrCAST-EUCAST. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>. [Acessado em Outubro de 2021].
16. Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Módulo 2: Controle externo da qualidade [Internet]. Brasília: Anvisa; 2013. Disponível em: https://www.saude.gov.br/images/imagens_migradas/upload/arquivos/2017-02/modulo-2---controle-externo-de-qualidade.pdf. [Acessado em Novembro de 2021].
17. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). Teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Método de Disco-Difusão para Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos. Versão 9.0, janeiro de 2021 do EUCAST. [s.l.], 24 de junho de 2021. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/> [Doc. 6] [acessado em 4 de maio de 2022].
18. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST) [Internet]. Kahlmeter G; Comitê Gestor do EUCAST. Redefinição das categorias dos testes de sensibilidade S, I e R. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>. [Acessado em Outubro de 2021].
19. Turnidge J, Paterson DL. Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints. *Clin Microbiol Rev*. 2007 Jul;20(3):391-408.
20. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [Internet]. Antimicrobial wild type distributions of microorganisms. Disponível em: https://mic.eucast.org/search/show-registration/5932?back=https://mic.eucast.org/search/?search%255Bmethod%255D%3Dmic%26search%255Bantibiotic%255D%3D123%26search%255Bspecies%255D%3D-1%26search%255Bdisk_content%255D%3D-1%26search%255Blimit%255D%3D50. [Acessado em Novembro de 2021].
21. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. [s. l.], 14 de abril de 2022. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/> [Doc. 1] [acessado em 4 de maio de 2022].
22. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [Internet]. Antimicrobial susceptibility tests on groups of organisms or agents for which there are no EUCAST breakpoints. Disponível em: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Organisms_and_agents_without_breakpoints_20160626.pdf. [Acessado em Novembro de 2021].



Este material foi desenvolvido com financiamento da Pfizer

Material de distribuição exclusiva a profissionais de saúde.
Proibida a reprodução ou compartilhamento com terceiros

PP-HOS-BRA-0186 - Julho/2022

Fale Pfizer
0800-7701575
www.pfizer.com.br

