

## CORRELAÇÃO ENTRE CLSI, EUCAST E E-TESTE PARA TESTES DE SUSCETIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS EM ISOLADOS CLÍNICOS DE *CANDIDA* spp.

André L. R. Claudino<sup>1</sup>; Rafael F. P. Júnior<sup>1</sup>; Juliana Lyon<sup>2</sup>; Jorge K. Chavasco<sup>1</sup>; Marília C. Franco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Alfenas, Laboratório de Biologia Molecular de Microrganismos

<sup>2</sup>Universidade do Vale do Paraíba; Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento

**Resumo:** O presente trabalho analisa a correlação entre os resultados obtidos em testes de suscetibilidade a anfotericina B e fluconazol utilizando três metodologias: Os métodos de microdiluição propostos pelo Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (M27-A2) e pelo European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) (document E. Dis. 7.1) e o método Etest em placas de agar. A concordância entre resultados obtidos nos três tipos de teste foi alta. Este estudo demonstrou a adequação do E-teste com agar Muller Hinton para a avaliação da suscetibilidade de *Candida* spp. A anfotericina B e ao fluconazol.

**Palavras-chave:** *Candida*, Anfotericina B, Fluconazol, Etest, CLSI e EUCAST.

**Área do Conhecimento:** Saúde

### Introdução

Muitos estudos têm sido realizados visando a comparação entre o método microdiluição para determinação do perfil de suscetibilidade a antifúngicos proposto pelo Clinical committee (CLSI) com testes de suscetibilidade disponíveis comercialmente, como o E-teste (PFALLER et al 2004; FLECK et al 2007). Entretanto, existem poucos relatos na literatura a respeito do método proposto pelo European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST), também de microdiluição, com relação aos testes comerciais (DIAS et al., 2006).

O objetivo deste estudo é comparar as concentrações inibitórias mínimas (CIM) obtidas pelos métodos de microdiluição propostos pelo CLSI (M27-A2) e pelo European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) (document E. Dis. 7.1) e o método Etest em placas de agar para determinação da suscetibilidade in vitro de isolados clínicos de *Candida* spp. à Anfotericina B e Fluconazol, dois dos antifúngicos mais frequentemente utilizados.

### Metodologia

Um total de 30 isolados de *Candida* spp., identificados pelo sistema identified with the API 20C AUX (Biomerieux Vitek, Hazelwood, MO) foram selecionados do bano de amostras do Instituto Adolfo Lutz. Os isolados incluíam 22 *Candida albicans* (73.3%), três *C. parapsilosis* (10%), três *C. tropicalis* (10%) e duas *C. glabrata* (6.7%). O controle de qualidade foi realizado pela

utilização das amostras *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. krusei* ATCC 6258.

Os testes de suscetibilidade foram realizados segundo com cada uma das amostras conforme recomendado pelo documento M27-A2 do CLSI, conforme o documento E.Dis.7.1 do EUCAST e segundo as instruções do documento do CLSI M44-A de difusão em agar para o E-teste.

### Resultados

As concentrações inibitórias mínimas obtidas para cada teste e o grau de concordância entre E-teste, CLSI e EUCAST estão representados na tabela 1

Tabela 1-Concentrações inibitórias mínimas de Anfotericina B e Fluconazol para amostras de *Candida* spp. Testadas pelas metodologias CLSI, Eteste e EUCAST e grau de concordância entre os métodos.

Antifúngico	Método	CIM ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) <sup>a</sup>			Coeficiente de Correlação de Pearson (r) Eteste <sup>b</sup>
		Varição	50%	90%	
Anfotericina B	EUCAST	0,015-0,25	0,06	0,12	0,77
	CLSI	0,015-0,25	0,15	0,12	0,51
	Etest	0,006-0,5	0,047	0,016	-
Fluconazol	EUCAST	0,12- $\geq$ 64	0,25	1,0	0,98
	CLSI	0,12- $\geq$ 64	0,012	0,5	1,0
	Etest	0,38-48	0,25	1,0	-

Concentração inibitória mínima para 50% e 90% dos isolados ; <sup>b</sup> Coeficiente de correlação de Pearson (-1 indica uma correlação perfeitamente

negativa e + 1 correlação perfeitamente positiva entre Eteste e os métodos de microdiluição)  $P < 0.005$ .

### Discussão

No presente estudo, três metodologias de testes de suscetibilidade a antifúngicos foram avaliadas e comparadas. Apesar dos avanços realizados para o desenvolvimento e avaliação da metodologia de microdiluição, o método o CLSI ainda apresenta algumas limitações não solucionadas. Como o fenômeno do "trailing" observado com agentes azólicos, a dificuldade de detecção de resistência à Anfotericina B, a determinação visual subjetiva da CIM e a necessidade de tempo adicional para a obtenção dos resultados (PFALLER et al 1990). Relatos têm indicado que o Eteste promove melhor discriminação entre isolados suscetíveis e resistentes de *Candida* spp. Do que o método de referência do CLSI, e também tem sido sugerido que os resultados do Eteste fornecem uma previsão melhor do resultado do tratamento (ARENDRUP et al 2001; PEYRON et al 2001). No presente estudo, não foram encontrados isolados resistentes a Anfotericina B com nenhum dos métodos empregados.

Recentemente foi demonstrado que a concordância entre CLSI e EUCAST era muito grande para testes de suscetibilidade a Anfotericina B e Fluconazol. (CUENCA-ESTRELLA et al 2005). No presente estudo, os resultados encontrados para ambos antifúngicos por Eteste era normalmente mais elevado do que para os testes de microdiluição. Este fenômeno pode ser explicado pela pouca definição entre a zona de crescimento e a zona de não-crescimento em 24 h para o Eteste.

### Conclusão

A concordância entre as três metodologias testadas foi menor para o fluconazol do que para a Anfotericina B. As CIM obtidas para Anfotericina B e Fluconazol por Eteste exibiram um alto grau de concordância com as CIMs obtidas pelas metodologias de microdiluição.

### Agradecimentos

This work has been supported by CAPES. We thank Amanda Latercia Tranches Dias for the help with the statistical analysis.

### Referências

1. Pfaller MA, Boyken L, Messer SA, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ (2004) Evaluation of the Etest Method Using Mueller-Hinton Agar with Glucose and Methylene Blue for Determining Amphotericin B MICs for 4,936 Clinical

Isolates of *Candida* Species. J. Clin. Microbiol 42:4977-4979.

2. Fleck R, Dietz A, Hof H (2007) In vitro susceptibility of *Candida* species to five antifungal agents in a German university hospital assessed by the reference broth microdilution method and Etest. J. antimicrob chemoter 59:767-771.
3. Dias ALTD, Matsumoto FE, Melhem SMC, Silva EG, Auler ME, Siqueira AM, Paula CR (2006) Comparative analysis of Etest and broth microdilution method (AFST-EUCAST) for trends in antifungal drug susceptibility testing of Brazilian *Cryptococcus neoformans* isolates. J Med Microbiol. 55:1693-1699.
4. Pfaller MA, Rinald MG, Galgiani JN (1990) Collaborative investigation of variables in susceptibility testing of yeasts. Antimicrob. Agents Chemother 34:1648-1654.
5. Peyron F, Favel A, Michel-Nguyen A, Gilly M, Regli P, Bolmstrom A.(2001) Improved detection of amphotericin B-resistant isolates of *Candida lusitanae* by Etest. J. Clin. Microbiol. 39:339-342.
6. Arendrup M, Lundgren B, Jensen IM, Hansen BS, Frimodt-Moller N (2001) Comparison of Etest and a tablet diffusion test with the NCCLS broth microdilution method for fluconazole and amphotericin B susceptibility testing of *Candida* isolates. J. Antimicrob. Chemother 47:521-526.
7. Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL (2005) Correlation between the procedure for antifungal susceptibility testing for *Candida* spp. of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) and four commercial techniques Clin. Microbiol. Infect 11:486-492.