

CORRELAÇÃO ENTRE AS METODOLOGIAS CLSI E E-TEST PARA A DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *TRICHOSPORON* SPP.

Raquel Maria Lima Lemes¹; Juliana Pereira Lyon²; Leonardo Marmo Moreira²; Cristiano
Gomes de Cristo²; Maria Aparecida de Resende¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais

²Universidade do Vale do Paraíba; Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento

Resumo: O objetivo do presente estudo foi avaliar a suscetibilidade a antifúngicos de espécies de *Trichosporon* isoladas de diferentes fontes comparando duas metodologias: CLSI (Clinical and Laboratorial Standards Institute) e E-test. O perfil de suscetibilidade de 34 isolados foi testado contra anfotericina B, 5-flucitossina, fluconazol, itraconazol, voriconazol e terbinafina. A comparação entre as metodologias revelou maiores discrepâncias entre os resultados obtidos para o itraconazol e a 5-flucitossina.

Palavras-chave: *Trichosporon* spp., antifúngicos, CLSI, E-test

Área do Conhecimento: Saúde

Introdução

Trichosporon spp. podem causar infecções em seres humanos que variam de envolvimento cutâneo superficial a doenças sistêmicas em imunossuprimidos (WOLF et al., 2001). A tricosporonose é causada principalmente por seis espécies: *T. asahii*, *T. mucoides* são agentes de infecções profundas, *T. cutaneum* e *T. asteroides* causam infecções superficiais e *T. ovoides* e *T. inkin* estão envolvidos no desenvolvimento de Piedra branca de cabeça e região genital respectivamente.

O aumento na incidência e morbidade das infecções fúngicas tem levado ao interesse pelo desenvolvimento de terapêuticas adequadas. O método do CLSI para suscetibilidade a antifúngicos inclui os gêneros *Candida* e *Cryptococcus*, mas não o gênero *Trichosporon*. Segundo Arikan e Haşçelik (2002), não se sabe se existe alguma variação relacionada a espécie no perfil de suscetibilidade de isolados de *Trichosporon*. Além disso, a concordância entre metodologias não foi extensivamente avaliada para este gênero.

O presente estudo foi realizado para a determinação do perfil de suscetibilidade in vitro a antifúngicos para diferentes espécies *Trichosporon*, visando também a comparação entre as metodologias do CLSI e E-test. Os dados obtidos fornecerão parâmetros epidemiológicos para escolhas terapêuticas e podem ser valiosos

para a validação de diferentes metodologias para teste de suscetibilidade a antifúngicos de *Trichosporon* spp.

Metodologia

Trinta e quatro isolados pertencentes à coleção do laboratório de micologia da Universidade Federal de Minas Gerais foram avaliados. Além disso, foram incluídas amostras de referência CBS (Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands): *T. asahii* (CBS – 2479), *T. coremiiforme* (CBS -2482), *T. asteroides* (CBS - 3481), *T. inkin* (CBS - 5585), *T. mucoides* (CBS - 7625) e *T. ovoides* (CBS – 7556).

Foram realizados testes de suscetibilidade a anfotericina B, 5-flucitossina, fluconazol, itraconazol, voriconazol e terbinafina segundo a metodologia do CLSI (Documento M27 A2). O E-test foi realizado conforme instruções do fabricante para a anfotericina B, fluconazol, itraconazol e 5-flucitossina.

Resultados

A tabela 1 apresenta os resultados de concentração inibitória mínima (CIM) tanto por E-test quanto pela metodologia do CLSI.

A tabela 2 apresenta o perfil de suscetibilidade de todos os isolados.

Tabela 1 Concentração inibitória mínima (CIM) em µg/ml para amostras de referência CBS (Centraalbureau Voor Schimmelcultures) por CLSI and E-test.

	AMB	5-FC	FLU	ITR	TER	VOR
T. asahii (CBS 2479)						
1	0.25	2	32	2	0.03	0.5
2	0.25	8	32	1	-	-
T. asteroides (CBS 3481)						
1	1	32	0.5	0.5	1	0.5
2	0.125	32	0.75	0.75	-	-
T. coremiforme (CBS 2482)						
1	0.5	0.5	1	2	2	1
2	0.38	0.75	256	0.75	-	-
T. inkin (CBS 5585)						
1	64	2	64	64	8	4
2	32	0.006	256	32	-	-
T. mucoides (CBS 7625)						
1	0.12	64	0.5	2	0.25	0.25
2	0.38	32	8	0.75	-	-
T. ovoides (CBS 7556)						
1	0.125	2	2	2	2	0.25
2	0.25	0.38	0.38	0.38	-	-

- = Teste não realizado

1 – Resultados obtidos pelo método do CLSI

2 – Resultados obtidos por E-test

AMB= Anfotericina B; 5-FC= 5-flucitosina; FLU = Fluconazol; ITR = Itraconazol; TER=

Terbinafina; VOR= Voriconazol.

Tabela 2- Perfil de suscetibilidade in vitro de 34 isolados de *Trichosporon* spp. a Anfotericina B, 5-flucitosina, Fluconazol, Itraconazol, Terbinafina e Voriconazol.

Espécie (n)	CIM		CIM ₅₀ (24/48h)	CIM ₉₀ (24/48h)
	24 horas	48 horas		
T. asahii (26)				
Anfotericina B	0.06 - 64	0.06 - 64	2/4	64/64
5-flucitosina	0.25 - 32	0.25 - 64	2/4	8/16
Fluconazol	0.5 - 8	0.5 - 16	2/4	8/8
Itraconazol	0.5 - 32	0.5 - 64	2/4	8/16
Terbinafina	0.03 - 4	0.03 - 8	0.5/2	4/8
Voriconazol	0.03 - 4	0.03 - 4	0.5/1	1/2
T. asteroides (5)				
Anfotericina B	0.5 - 2	1 - 4	0.5/2	2/64
5-flucitosina	0.25 - 64	4 - 64	2/8	64/64
Fluconazol	0.5 - 2	1 - 8	1/2	2/8
Itraconazol	2 - 4	2 - 16	2/8	4/16
Terbinafina	0.25 - 4	2 - 8	1/4	4/8
Voriconazol	0.062 - 1	0.5 - 2	0.5/1	1/2
T. mucoides (1)				
Anfotericina B	1 - 1	1 - 1	1/1	1/1
5-flucitosina	64 - 64	64 - 64	64/64	64/64
Fluconazol	0.5 - 0.5	2 - 2	0.5/2	0.5/2
Itraconazol	0.5 - 0.5	4 - 4	0.5/4	0.5/4
Terbinafina	0.5 - 0.5	1 - 1	0.5/1	0.5/1
Voriconazol	0.25 - 0.25	0.5 - 0.5	0.25/0.5	0.25/0.5
T. ovoides (2)				
Anfotericina B	0.12 - 0.5	0.12 - 2	0.12/0.12	0.5/2
5-flucitosina	1 - 8	2 - 8	1/2	8/8
Fluconazol	0.5 - 4	0.5 - 8	0.5/0.5	4/8
Itraconazol	0.5 - 2	2 - 2	0.5/2	2/2
Terbinafina	0.03 - 1	0.25 - 2	0.03/0.25	1/2
Voriconazol	0.03 - 2	0.5 - 2	0.03/0.5	2/2

CIM₉₀, Concentração inibitória mínima para 90% dos isolados

CIM₅₀, Concentração inibitória mínima para 50% dos isolados

Discussão

Os resultados de suscetibilidade obtidos para *T. asahii* (CBS 2479) no presente trabalho estão de acordo com aqueles obtidos por in Wolf et al. (2001). Entretanto existem discrepâncias quando comparamos os nossos resultados com aqueles obtidos por Ghého et al. (1994), especialmente com relação ao itraconazol. As diferenças obtidas quando se compara resultados entre grupos, considerando-se uma mesma

amostra enfatizam a importância da padronização da conduta intra-laboratorial. Enquanto Wolf et al. (2001) utilizou um método visual para avaliação da CIM, como foi feito no presente estudo, Gheho (1994) utilizou um método automatizado.

Os resultados obtidos nesse trabalho revelam um perfil de resistência a anfotericina B e itraconazol, resistência moderada a 5-flucitosina e suscetibilidade ao fluconazol. Suscetibilidade variável a Anfotericina B tem sido observada entre isolados do gênero *Trichosporon*, especialmente entre aqueles obtidos de pacientes imunocomprometidos (RODRIGEZ-TUDELA et al., 2005; LI et al., 2005; UZUM et al., 2000). Esta observação pode levar a uma melhor conduta para a terapia antifúngica. Por outro lado, o Fluconazol foi eficaz e pode ser uma escolha válida para a terapia dessa infecção. A resistência ao itraconazol foi observada em todas as espécies de *R. Trichosporon* species. Apenas *T. mucoides* foi suscetível a Anfotericina B, Terbinafina e Voriconazol, sendo as demais espécies resistentes a estas drogas.

A maior discrepância obtida na comparação entre as metodologias do CLSI e E-test foi obtida para a 5-flucitosina.

Apesar destes dados não envolverem uma comparação entre a suscetibilidade vitro/in vivo", o presente trabalho provê dados epidemiológicos que poderiam influenciar escolhas terapêuticas. Além disso, a comparação entre metodologias de testes de suscetibilidade a antifúngicos é importante para sua validação como guia na escolha terapêutica.

Referências

1. Wolf DG, Hacham M, Theelen B, Boekhout T, Scorzetti G, Shapiro M, Block C, Salkin IF, Polachek I. Multidrug-Resistant *Trichosporon asahii* Infection of Nongranulocytopenic Patients in Three Intensive Care Units. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4420-25.
2. Guého E, Improvisi L, Hoog GS, Dupont B. *Trichosporon* on humans: a practical account. *Mycoses* 1994; 37: 3-10.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards (2002) Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved Standard M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
4. Arian S, Hascelik G. Comparison of NCCLS microdilution method and E-test in antifungal susceptibility testing of clinical *Trichosporon asahii* isolates.

- Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 43:107-111.
5. Rodriguez-Tudela JL, Diaz-Guerra TM, Mellado E, Cano V, Tapia C, Perkins A, Gomez-Lopez A, Rodero L, Cuenca-Estrella M. Susceptibility Patterns and Molecular Identification of *Trichosporon* Species Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49: 4026–4034.
 6. Li HM, Du HT, Liu W, Wan Z, Li RY. Microbiological characteristics of medically important *Trichosporon* species. Mycopathologia. 2005; 160: 217-224.
 7. Uzun O, Arikan S, Kocagoz S, Sancak B, Unal S. Susceptibility testing of voriconazole, fluconazole, itraconazole and amphotericin B against yeast isolates in a Turkish University Hospital and effect of time of reading. Diag. Microbiol. Infect. Dis. 2000; 38: 101-107.