

# AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE GRADIENTE EM FITA (Etest®) PARA DETERMINAÇÃO DE SUSCETIBILIDADE À POLIMIXINA B.

GIOVANNA DE ROSS<sup>1,2</sup>, ALEXANDRE P.ZAVASCKI.<sup>1,3</sup>

1. LABORATÓRIO DE PESQUISA EM RESISTÊNCIA BACTERIANA (LABRESIS), CENTRO DE PESQUISA EXPERIMENTAL, HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE (HCPA), PORTO ALEGRE-RS, BRAZIL;
2. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS);
3. DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA, FACULDADE DE MEDICINA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL.

Contato: giihdeross@gmail.com

## Introdução

Os isolados de *Klebsiella pneumoniae* estão entre as causas mais importantes de infecções nosocomiais e a resistência ao carbapenem mediada pela produção de carbapenemases, especialmente a KPC, é altamente prevalente em vários países. A terapia convencional para *K. pneumoniae* produtora de KPC (KPC-KP) tem sido as polimixinas, polimixina B ou colistina, em combinação com um segundo agente antimicrobiano. A resistência às polimixinas tem aumentado em muitas regiões e a resistência a esses agentes tem sido associada a maior mortalidade em pacientes infectados pelo KP-KPC. Por esse motivo, a determinação apropriada da suscetibilidade a esse medicamento é de suma importância.

O único método recomendado por EUCAST e CLSI para a determinação da suscetibilidade de polimixinas é a microdiluição. Essa recomendação, porém, é baseada em estudos com colistina (polimixina E) e foi assumido que resultados semelhantes seriam encontrados com a polimixina B, considerando que são moléculas altamente semelhantes. O uso do método de microdiluição em caldo pode não ser prático em muitos laboratórios de microbiologia clínica por ser bastante trabalhoso; assim, muitos laboratórios continuam testando a susceptibilidade à polimixina B com o (Etest®).

## Objetivos

O objetivo deste trabalho foi comparar o desempenho do método comercial Etest® com a microdiluição em caldo não automatizada, único método atualmente recomendado para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de Polimixina B (PMB), em isolados de KP-KPC.

## Materiais e métodos

- ❖ Isolados de KP-KPC recuperados de hemocultura de pacientes hospitalizados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) no período de abril de 2017 a abril de 2018 foram analisados; somente um isolado (primeiro) por paciente foi avaliado;
- ❖ Os isolados foram identificados como *K. pneumoniae* pelo método de MALDI-TOF e a detecção de KPC foi realizada pela técnica de PCR em tempo real;
- ❖ A CIM por microdiluição em caldo foi realizada em duplicata, seguindo as recomendações do CLSI. As seguintes diluições para PMB foram testadas: 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25 e 0,125 mg/L;
- ❖ A microdiluição em caldo foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana do HCPA;
- ❖ A determinação da CIM por Etest® foi realizada utilizando placas de Mueller-Hinton e um inóculo equivalente ao padrão 0,5 de McFarland;
- ❖ O Etest® foi realizado na rotina do Laboratório de Microbiologia do HCPA e os resultados foram comparados com os valores de CIM obtidos pelo método de microdiluição em caldo. Os resultados foram interpretados utilizando os pontos de corte estabelecidos pelo BrCAST-EUCAST, que categoriza como sensível à PMB os isolados que apresentam CIM ≤2mg/L;
- ❖ Para a avaliação dos resultados foram utilizados os critérios estabelecidos pelo FDA, que inclui concordância categórica, a qual deve ser ≥90%, e as taxas de *major error* (ME), que consiste em falsa resistência, e que deve ter valor ≤ 3,0%; e de *very major error* (VME), que consiste em falsa sensibilidade, e que deve ser ≤ 1,5%.

## Resultados

- ❖ Um total de 310 isolados de KP-KPC foram selecionados. Dessas, 89 (28,70%) foram resistentes à PMB pelo método de microdiluição. Por Etest®, 83 (26,77%) foram resistentes à PMB. As CIMs para PMB variaram de 0,125 a 64 mg/L pela microdiluição em caldo e de 0,125 a 384 mg/L pelo Etest®. Os valores de CIM50 e CIM90 (CIMs necessários para inibir 50% e 90% dos isolados, respectivamente) foram 0,25 e 32 mg/L para a microdiluição em caldo e 0,5 e 16 mg/L para o Etest®, respectivamente. A distribuição de CIMs por microdiluição está demonstrada na (Figura 1);
- ❖ A taxa de concordância categórica foi de 90% (n=279), e as taxas de VME e ME foram 34,7% (n=26) e 2,1% (n=5), respectivamente (Figura 2). A maioria dos VME ocorreram em isolados com CIMs de 4 e 8mg/L por microdiluição, porém, houve discrepâncias tão grande quanto CIM = 32mg/L por microdiluição e 0,25mg/L por Etest®.

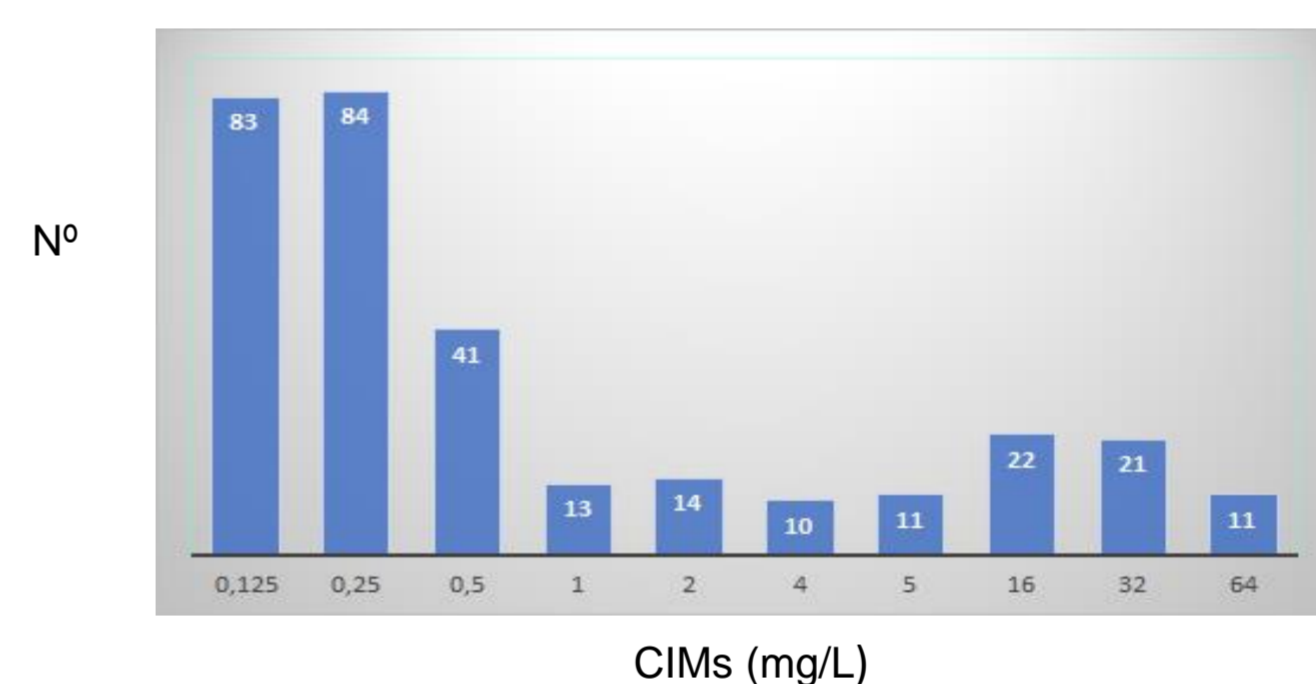


Figura 1. Distribuição das CIMs de polimixina B em 310 isolados de KPC-KP de hemoculturas. CIM por microdiluição em caldo.

CIM por microdiluição (padrão-ouro)	CIM por Etest												
	0,125	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	16,0	32,0	64,0	128,0	256,0	512,0
0,125	0	8	52	14	8	0	0	0	1	0	0	0	0
0,25	1	6	48	18	11	0	0	0	0	0	0	0	0
0,50	0	2	26	8	3	0	0	2	0	0	0	0	0
1,0	0	1	9	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2,0	0	1	7	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
4,0	0	0	3	3	2	0	0	2	0	0	0	0	0
8,0	0	2	3	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0
16,0	0	0	4	0	1	0	0	12	3	2	0	0	0
32,0	0	2	2	1	0	0	1	4	9	1	0	1	0
64,0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	2	3	0	1

Figura 2. Diagrama com comparação das CIMs (mg/L) de polimixina B entre microdiluição em caldo e Etest®. Concordância Essencial = CIM igual (verde) ou uma diluição acima ou abaixo (amarelo). Vermelho e negrito = *Very Major Errors* (falso suscetibilidade)

## Conclusão

Uma alta prevalência de resistência à polimixina B foi encontrada. Em virtude da elevada taxa de falsa sensibilidade observada em nosso estudo, o Etest® não pode ser utilizado para a avaliação *in vitro* da atividade das polimixinas de KP-KPC, pois pode resultar em uso inapropriado deste antibiótico e falha do tratamento.

Referências: Turnidge J, Sei K, Mouton J. Polymyxin Susceptibility Testing and Breakpoint Setting. Adv Exp Med Biol. 2019;1145:117-132; <http://brcast.org.br/>