



## COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA FOSFOMICINA EM ISOLADOS DE *Acinetobacter baumannii*

Pedro Marquetti Pereira (PIBIC/CNPq), Priscila Elizabeth Gobbi Matta, Danielle Rosani Shinohara, Ana Cristina dos Santos Machado, Ana Paula Montemezzo de Farias, Sheila Alexandra Belini Nishiyama, Maria Cristina Bronharo Tognim (Orientador),  
e-mail: ra89456@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

### Microbiologia, Microbiologia Médica.

**Palavras-chave:** *Acinetobacter baumannii*, fosfomicina, teste de sensibilidade, metodologias.

### Resumo:

*Acinetobacter baumannii* é um cocobacilo Gram negativo multirresistente, responsável por graves infecções hospitalares com altas taxas de morbimortalidade. A escassez de novos antimicrobianos para combatê-lo incentiva o estudo dos “antigos” antimicrobianos como a fosfomicina. Contudo, a falta de critérios interpretativos para *A.baumannii* nos comitês internacionais dificulta a possibilidade do uso destes como opção terapêutica. Sendo assim o presente estudo objetivou avaliar a atividade antimicrobiana da fosfomicina contra diferentes *clusters* de *A.baumannii*, pelos métodos: ágar diluição (AD), microdiluição em caldo (MD), disco difusão (DD) e Etest® (ET), comparando-os. O critério para sensibilidade foi determinado tanto pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) como pelo *European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) para enterobactérias. Foram testados 92 diferentes *clusters* de *A. baumannii* isolados de três hospitais do Paraná. A concentração inibitória mínima (CIM) de fosfomicina para os isolados testados mostrou-se elevada demonstrando a baixa atividade deste antimicrobiano para estes microrganismos. Baseado nos pontos de corte do EUCAST verificamos concordância superior a 94% entre os métodos testados, enquanto que baseado no CLSI a concordância foi menor que 50%. ET e MD tiveram





melhores resultados nas leituras de morte ou inibição total dos microrganismos. A metodologia de DD não apresentou resultados aceitáveis para determinação da sensibilidade a fosfomicina. Os critérios de sensibilidade estabelecidos pelo EUCAST facilitaram as leituras e minimizaram o número de erros e as diferenças entre as metodologias testadas.

## Introdução

*Acinetobacter baumannii* é um cocobacilo Gram-negativo, causador de infecções hospitalares, e que apresenta alta resistência aos antimicrobianos (Perdição-Neto et. al. 2014). A falta de recursos terapêuticos contra estes microrganismos incentivou o resgate de antigos fármacos como a fosfomicina, como uma possível opção para o tratamento de infecções por *A.baumannii*. Entretanto, não existe padronização para testes de sensibilidade contra *A.baumannii* com este antimicrobiano. Considerando este fato, novas pesquisas devem ser realizadas para os comitês internacionais como o CLSI e EUCAST possam estabelecer regras que possibilitem os testes de sensibilidade com a fosfomicina. O presente estudo avaliou os métodos de AD (padrão ouro), MD, e DD e ET contra 92 diferentes *clusters* de *A. baumannii* a fim de determinar a sensibilidade desses isolados segundo cada método e comparar os resultados de acordo com os pontos de corte dos comitês CLSI e EUCAST.

## Materiais e métodos

### **Amostras bacterianas**

Foram selecionados 92 diferentes *clusters* de *A. baumannii* isolados de pacientes distintos, hospitalizados em UTI, nos últimos 20 anos (1994-1996, 2004 e 2007) de três hospitais da região norte do Paraná.

### **Determinação da CIM e comparação de métodos**

A determinação da CIM para os testes de AD, DD e MD, foi realizada conforme documento M07-A10 (CLSI, 2015) e para o método de ET utilizou-se a recomendação determinada pelo fabricante. Duas diferentes leituras foram consideradas nos testes de MD, DD e ET: leitura 1 = inibição do crescimento da maioria da população sendo as subpopulações desconsideradas; leitura 2 = inibição total do crescimento bacteriano. A metodologia AD foi considerada referência sendo as demais comparadas a ela. A interpretação da sensibilidade foi realizada de acordo com os





documentos de pontos de corte do CLSI e EUCAST (CLSI, 2016 e EUCAST, 2016). Os erros foram classificados segundo *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (NCCLS, 2001).

## Resultados e Discussão

A grande maioria dos isolados apresentou CIM >128 µg/mL para fosfomicina pelo método de AD, demonstrando que este antimicrobiano possui baixa atividade contra *A. baumannii*, podendo, no entanto, ser utilizado em terapias combinadas.

Quando utilizada a interpretação do EUCAST, a categorização dos isolados em relação à sensibilidade à fosfomicina para MD e ET (leitura 2) mostrou resultados idênticos àqueles verificados no padrão ouro (AD), com 98,9% de resistência e 100% de concordância entre estes métodos. Utilizando-se a interpretação do CLSI, os resultados foram bem distintos (Tabela 1).

**TABELA 1.** Atividade antimicrobiana de fosfomicina contra 92 isolados de *A. baumannii*

Método	MIC (µg/mL)			número de isolados (%)				
				CLSI			EUCAST	
	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	Variação	S	I	R	S	R
AD	128	512	8 - 1024	25 (27,2)	40 (43,5)	27 (29,3)	1 (1,1)	91 (98,9)
MD1	256	1024	32 - 1024	18 (19,6)	9 (9,8)	65 (70,6)	6 (6,5)	86 (93,5)
MD2	512	1024	32 - 1024	3 (3,3)	4 (4,3)	85 (92,4)	1 (1,1)	91 (98,9)
ET1	96	256	32 - 1024	34 (37,0)	48 (52,1)	10 (10,9)	3 (3,3)	89 (96,7)
ET2	1024	1024	64 - 1024	1 (1,1)	0 (0,0)	91 (98,9)	1 (1,1)	91 (98,9)

  

Método	Variação em mm		S	I	R	S	R
DD <sub>50</sub> 1	6 - 21		37 (40,2)	38 (44,3)	17 (18,5)	*	-
DD <sub>50</sub> 2	6 - 21		11 (12,0)	8 (8,7)	73 (79,3)	-	-
DD <sub>200</sub> 1	7 - 23		78 (84,8)	12 (13,0)	2 (2,2)	-	-
DD <sub>200</sub> 2	6 - 23		27 (29,3)	17 (18,5)	48 (52,2)	-	-

DD<sub>50</sub>1, disco difusão 50µg leitura halo externo, DD<sub>50</sub>2, disco difusão 50µg leitura halo interno; DD<sub>200</sub>1, disco difusão 200µg leitura halo externo, DD<sub>200</sub>2, disco difusão 200µg leitura halo interno; S, sensibilidade; I, sensibilidade intermediária; R, resistência; MIC50, MIC que inibiu 50% dos isolados; MIC90, MIC que inibiu 90% dos isolados; CLSI, critério interpretativo do CLSI; EUCAST, critério interpretativo do EUCAST \*, comitê não possui critérios para interpretação de sensibilidade.





Não foi verificada boa correlação entre os resultados obtidos de DD e AD, independentemente da potência do disco utilizada. Quando utilizados os critérios de sensibilidade do CLSI, a concordância entre os métodos foi muito baixa sendo 27,2%, 33,7%, 44,6% e 30,4% para MD1, MD2, ET1 e ET2 respectivamente. Em relação aos padrões EUCAST as concordâncias foram de 94,6% para MD1, 100% para MD2, 95,6% para ET1 e 97.8% para ET2.

### Conclusões

Os resultados demonstraram que MD e ET podem ser utilizados para determinação da CIM de fosfomicina para *A.baumannii* desde que utilizados os critérios do EUCAST, já a metodologia de DD não mostrou bons resultados devendo, portanto ser evitada pelos laboratórios.

### Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pela bolsa e apoio financeiro.

### Referências

Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically.** Approved standard, 10th ed. CLSI document M7-A10. 10th ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100-S26;** 26th informational supplement. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 6.0. **EUCAST 2016.** < [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/) >. Acesso em: 13 de março de 2016.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Development of in vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Controls Parameters; Approved Guideline.** 2nd ed. Wayne, PA: NCCLS; 2001.

Perdigão-Neto, L. V. **Susceptibility of multiresistant gram-negative bacteria to fosfomicin and performance of different susceptibility testing methods.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 58, p.1763-1767, 2014.

