

## **Avisos do EUCAST sobre produtos ou procedimentos de teste de sensibilidade a antimicrobianos.**

Os laboratórios de desenvolvimento do teste de disco difusão do EUCAST, que compõem uma rede de laboratórios coordenados pelo laboratório central do EUCAST em Växjö, na Suécia, de tempos em tempos, alertam sobre produtos (discos, lotes de meio, testes de gradiente ou procedimentos) que não estão de acordo com o padrão de qualidade esperado. Quando este é o caso, informa-se o fabricante e publica-se um aviso na página do EUCAST, e também o será nesta página.

Nem todos os produtos são sistematicamente testados, portanto a falta de aviso não significa que não haja problema com o produto em questão.

Laboratórios que encontram problemas com um método de teste de sensibilidade e suspeitam que isso possa estar relacionado com um produto específico, pode entrar em contato com o BrCAST/EUCAST para aconselhamento.

Abaixo seguem os avisos correntemente em vigor no site do EUCAST ([http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/warnings/#c13111](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/warnings/#c13111)):

1. Problemas com testes de gradiente de concentração de piperacilina-tazobactam de dois fabricantes - o aviso emitido em 2015 será removido quando o problema for resolvido.
2. Grande variação na qualidade dos discos de 16 antibióticos de nove fabricantes - o aviso emitido em 2015 e reiterado em 2016 será removido quando o problema for resolvido.
3. Problemas com os testes de sensibilidade à colistina e vários produtos comercialmente disponíveis - o aviso inicialmente emitido em julho de 2016 foi atualizado em 26 de junho de 2017.

### **2. Grande variação na qualidade dos discos de 16 antibióticos de nove fabricantes - o aviso emitido em 2015 e reiterado 2016 será removido quando o problema for resolvido.**

Durante 2014 e 2015, o EUCAST avaliou a potência antimicrobiana de 16 discos de antibióticos de importância estratégica de nove fabricantes de discos para testes de sensibilidade antimicrobiana. Os resultados do primeiro estudo foram divulgados no ECCMID 2014. Os fabricantes tiveram a oportunidade de fornecer novos lotes de discos para melhorar seus resultados. A segunda rodada de testes foi apresentada no ECCMID em Amsterdã (2016). Alguns fabricantes solicitaram que o EUCAST realize verificações adicionais sobre novos lotes produzidos para tentar reduzir o mau desempenho dos lotes anteriores. A apresentação atual ([http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Disk\\_test\\_documents/Warnings/](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Warnings/)

### **1. Problemas com testes de gradiente de concentração em fita de piperacilina-tazobactam de dois fabricantes - o aviso emitido em 2015 será removido quando o problema for resolvido.**

Após relatos sequenciais de problemas relacionados aos testes de gradiente de piperacilina-tazobactam, vários lotes das fitas da BioMérieux e da Liofilchem (de pacotes individuais e com múltiplas fitas) foram avaliados pelo Laboratório Central de Desenvolvimento do EUCAST, Växjö, Suécia (janeiro de 2016). Cepas de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa* (cepas de controle de qualidade e cepas com mecanismos de resistência conhecidos) foram testadas por esses métodos e também por microdiluição em caldo.

Os testes de gradiente de concentração em fita de ambos os fabricantes apresentaram resultados variáveis e não confiáveis. A diferença entre as concentrações inibitórias mínimas obtidas pelos testes de gradiente de concentração em fita e a microdiluição em caldo não foi sistemática, alguns resultados foram duas diluições acima, enquanto outros foram muito abaixo dos valores esperados. Houve também uma variação considerável entre os lotes do mesmo fabricante.

O EUCAST solicita que os fabricantes considerem seriamente esses problemas e que os usuários testem controles de qualidade internos para cada procedimento. Não se detectou problemas nos resultados do teste de disco difusão (disco 30 + 6 µg), mas atualmente não é possível confirmar os resultados de disco difusão utilizando um teste de gradiente de concentração em fita.

Summary\_Evaluation\_of\_selected\_disks\_from\_nine\_manufacturers\_Update\_June\_2016.pdf ), lançada em 25 de junho de 2016, contém ambos os dados antigos e os novos quando estes eram disponíveis.

O estudo indicou que os fabricantes e os discos apresentaram qualidade variável. Os discos de alguns fabricantes eram consistentemente de alta qualidade, enquanto para outros fabricantes era o contrário. Os laboratórios foram avisados para não utilizarem alguns discos e os fabricantes foram notificados para melhorarem seus processos de fabricação.

Estudos estão sendo realizados e posteriormente serão incluídos na apresentação.

### **3. Problemas com os testes de sensibilidade à colistina e vários produtos comercialmente disponíveis**

Este aviso foi emitido em julho de 2016 e modificado e ampliado em 26 de agosto e 28 de novembro de 2016. O texto atual é de 20 de junho de 2017 e é um resumo dos avisos anteriores e inclui os resultados após novos testes que testaram maior número de micro-organismos por microdiluição em caldo. Os avisos serão modificados ou removidos quando os problemas forem resolvidos.

O teste de sensibilidade à colistina foi repleto de dificuldades. Um subcomitê conjunto do EUCAST e do CLSI recentemente emitiu recomendações (<http://>

[www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/General\\_documents/Recommendations for MIC determination of colistin March 2016.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf) )

confirmando que a microdiluição do caldo (BMD, do inglês Broth Microdilution) é até agora o único método válido e que o teste de disco difusão não funciona por causa da baixa difusão da molécula de colistin. O relatório não avaliou os testes de gradiente de concentração em fita de colistina, mas os relatos na literatura questionaram a validade das MICs obtidas com os testes de gradiente.

Foi utilizada uma coleção de isolados clínicos (n = 75) obtidos a partir de contatos internacionais (coleção SENTRY (P. Rhomberg, JMI Laboratories, EUA); S. Gatermann, Bochum, Alemanha; R. Henriksen, DTU, Copenhagen, Dinamarca; Ö. Samuelsen, Tromsø, Noruega; J. Vila, Barcelona e L. Martinez-Martinez, Santander, Espanha) que incluíam *Escherichia coli* (n = 14), *Klebsiella pneumoniae* (n = 18), *Pseudomonas aeruginosa* (n = 21) e *Acinetobacter* spp. (n = 22) sem e com vários mecanismos de resistência e com diferentes graus de resistência à colistina. Vários isolados de *Enterobacteriaceae* apresentaram o gene *mcr-1*. Os valores da CIM por BMD das quatro espécies variaram de 0,25 a 128 mg/L.

#### **Resumo e conclusão:**

- Os testes de BMD avaliados parecem dar resultados corretos tanto para isolados sensíveis quanto para os resistentes (ver abaixo), embora alguns deles possam se beneficiar de melhorias futuras.

- O teste de disco difusão não pode ser utilizado para testes de sensibilidade à colistina. Ele não discrimina isolados sensíveis e resistentes.

- Os testes de gradiente de concentração em fita atualmente disponíveis subestimam os valores da CIM de colistina, e devem ser evitados, até mesmo quando os resultados do controle de qualidade estão dentro do limite esperado.

- Não foi possível avaliar sistematicamente a sensibilidade à colistina pelos métodos semi-automatizados, mas ao enviar isolados com valores de CIM na faixa de resistente para colegas ao redor do mundo, observamos a ocorrência frequente de erros muito graves.

Os usuários de dispositivos semi-automatizados devem aplicar controle de qualidade rigoroso (veja abaixo) e verificar com o fabricante se eles estão confiantes de que seu método de sensibilidade fornece resultados corretos para colistina.

- O controle de qualidade para colistina deve ser realizado com uma cepa de CQ sensível (*E. coli* ATCC 25922 ou *P. aeruginosa* ATCC 27853) e *E. coli* resistente à colistina NCTC 13846 (*mcr-1* positivo). Para *E. coli* NCTC 13846, o valor esperado para colistina é de 4 mg/L e, ocasionalmente, deve ser de 2 a 8 mg/L.

Para maiores informações sobre o estudo e resultados para três métodos de BMD comerciais [Sensititre (placa personalizada), MICRONAUT-S e MICRONAUT MIC Strip] e teste gradiente de dois fabricantes (Etest/bioMérieux e MIC Test Strip/Liofilchem) sugere-se analisar o pôster 161 (ECCMID Viena, 2017) - [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Warnings/Matuschek\\_colistin ECCMID 2017.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Warnings/Matuschek_colistin_ECCMID_2017.pdf). Depois de apresentar o pôster no ECCMID 2017, foram avaliados dois métodos adicionais de BMD comercial: SensiTest (Liofilchem) e UMIC (Biocentric).

## **Resumo dos resultados para todos os métodos BMD comerciais**

### **Concordância geral ("Essential Agreeemnet" - CIMs ao redor $\pm 1$ diluição da CIM de referência):**

Sensititre (Thermo Fisher Scientific): 96%  
MICRONAUT-S (Merlin Diagnostika): 96%  
MICRONAUT MIC-Strip (Merlin Diagnostika): 99%  
SensiTest (Liofilchem): 88%  
UMIC (Biocentric): 82%

### **Erros graves (falsa resistência), Número total de testes = 75**

Sensititre (Thermo Fisher Scientific): 4  
MICRONAUT-S (Merlin Diagnostika): 6  
MICRONAT MIC-Strip (Merlin Diagnostika): 5  
SensiTest (Liofilchem): 7  
UMIC (Biocentric): 3

### **Erros graves (falsa sensibilidade), Número total de testes = 75**

Sensititre (Thermo Fisher Scientific): 0  
MICRONAUT-S (Merlin Diagnostika): 2  
MICRONAT MIC-Strip (Merlin Diagnostika): 2  
SensiTest (Liofilchem): 1  
UMIC (Biocentric): 3