

Teste de sensibilidade antifúngica à anfotericina B – problemas detectados com vários produtos comerciais disponíveis

10 de abril de 2026

O BrCAST/EUCAST definiu ECOFFs e pontos de corte para *Candida auris*. Os pontos de corte para anfotericina B são $S \leq 0,001$ mg/L e $R > 2$ mg/L, o que classifica toda a população selvagem (ECOFF: 2 mg/L) como sensível ao aumento da exposição (“I”).

O teste de sensibilidade à anfotericina B contra *C. auris*, utilizando métodos comerciais, tem sido associado à superestimação da resistência devido à maior variabilidade e às distribuições mais amplas de CIM e/ou de CIMs mais elevadas. Consequentemente, o BrCAST/EUCAST alerta contra o uso dos seguintes testes para determinação da CIM da anfotericina B em *C. auris*:

- Tiras de gradiente Etest, com dupla inoculação por swab e/ou incubação por 48 horas
- Sistema Vitek 2
- Sensititre *YeastOne*

Dados de suporte:

Tiras de gradiente de concentração:

Arendrup MC, Lockhart SR e Wiederhold N (Clin Microbiol Infect 2025; doi: 10.1016/j.cmi.2024.10.010) compararam os métodos de referência (BrCAST/EUCAST e CLSI) às tiras de gradiente de difusão Etest e MTS, utilizando uma coleção compartilhada de cepas de *C. auris*. Foram incluídas 40 cepas de *C. auris* provenientes de nove estados dos Estados Unidos e pertencentes a pelo menos três clados distintos. Foram gerados onze conjuntos de dados de CIM utilizando os métodos BrCAST/EUCAST E.Def 7.4, CLSI M27Ed4, Etest e tiras MTS (Liofilchem). A determinação da CIM da anfotericina B pelos métodos BrCAST/EUCAST e CLSI mostrou-se robusta em todas as variáveis metodológicas avaliadas. A CIM modal foi de 1 mg/L, com distribuições unimodais e estreitas, apresentando médias geométricas semelhantes (0,745–1,072 mg/L). Em

contraste, os testes por tiras de difusão em gradiente resultaram em distribuições mais amplas e bimodais em 8 dos 9 conjuntos de dados avaliados.

Quando se adotou, de acordo com o protocolo do fabricante, a dupla inoculação para o método Etest, a CIM modal aumentou para 2–4 mg/L e as taxas de resistência, utilizando o ponto de corte (BP) recentemente estabelecido pelo BrCAST/EUCAST de $I \leq 2$ mg/L para interpretação, atingiram em média 13,3% (16/120) (variação de 2,5% [1/40] a 22,5% [9/40], entre três leitores), em comparação com 5% (2/40) obtidos com inoculação única e incubação por 24 horas em testes rotineiros consecutivos. Quando uma segunda leitura foi realizada após 48 horas, conforme recomendado no protocolo do Etest, as taxas de resistência aumentaram para uma média de 40% (48/120) (variação de 22,5% [9/40] a 50% [20/40], entre três leitores).

Para a tira MTS (Liofilchem), 5,1% (2/39) dos isolados foram incorretamente classificados como resistentes (R) com base no ponto de corte do BrCAST/EUCAST de $R > 2$ mg/L. Os resultados de CIM obtidos pelos métodos BrCAST/EUCAST e CLSI apresentaram elevada concordância, enquanto o teste por tiras mostrou distribuições mais amplas e bimodais, além de variabilidade entre leitores e entre centros participantes.

O estudo reforça a preocupação quanto ao uso de métodos comerciais na determinação da CIM da anfotericina B em *C. auris* e sugere que o ponto de corte atualmente utilizado pode levar à superestimação da resistência à anfotericina B nessa espécie.

M. Siopi, S. Leventaki, I. Pachoulis, B. Spruijtenburg, J.F. Meis, S. Pournaras, G. Vrioni, A. Tsakris e J. Meletiadis (J Clin Microbiol. doi: 10.1128/jcm.00399-25) compararam as CIMs obtidas por MTS com aquelas determinadas pelo método CLSI utilizando uma coleção internacional de 100 isolados de *C. auris* pertencentes a diferentes clados, interpretados com base em um ponto de corte de 1 mg/L. Foram observadas discrepâncias significativas na interpretação dos resultados da anfotericina B (66% de concordância categórica [CA] e 34% de erros maiores [MaEs]). O método CLSI mostrou-se comparável ao BrCAST/EUCAST, utilizando a mesma coleção de isolados para a maioria dos antifúngicos, incluindo a anfotericina B, para a qual foi observada concordância essencial e categórica de 100%.

Ao aplicar os pontos de corte recentemente estabelecidos pelo EUCAST ($I \leq 2$ mg/L; $R > 2$ mg/L), 5% dos isolados foram incorretamente classificados como resistentes, em concordância com os achados descritos anteriormente por Arendrup et al.

Em contraste, De Luca et al. (Med Mycol. 2025 Feb 28;63(3):myaf019. doi: 10.1093/mmy/myaf019. PMID: 40037609) compararam os métodos CLSI e Etest para anfotericina B em 60 isolados de *C. auris* pertencentes a quatro clados distintos. Nesse estudo, nenhuma resistência falsa foi observada no Etest, e 100% dos isolados apresentaram CIM ≤ 2 mg/L.

Sistema Vitek 2

Siopi M, Pachoulis I, Leventaki S, Spruijtenburg B, Meis JF, Pournaras S, Vrioni G, Tsakris A e Meletiadiis J (J Clin Microbiol, 2024; doi: 10.1128/jcm.01528-23) compararam o sistema Vitek 2 com o método CLSI utilizando uma coleção internacional de 100 isolados de *C. auris* pertencentes a diferentes clados. A concordância essencial (± 1 diluição) entre CLSI e Vitek 2 foi baixa para a anfotericina B (29%). Foram observados erros significativos de interpretação ao se utilizar os pontos de corte do CDC para anfotericina B ($R \geq 2$ mg/L), com 31% de concordância categórica (CA) e 69% de erros maiores (MaEs).

As discrepâncias foram reduzidas quando se utilizou o valor-limite superior do tipo selvagem (WT-ULV) do Vitek 2 para anfotericina B, de 16 mg/L, resultando em 98% de concordância categórica e apenas 2% de erros maiores. Em conclusão, o sistema Vitek 2 superestimou a resistência à anfotericina B quando interpretado com base nos pontos de corte do CDC ($R \geq 2$ mg/L).

Ao aplicar os pontos de corte recentemente estabelecidos pelo BrCAST/EUCAST para anfotericina B ($I \leq 2$ mg/L; $R > 2$ mg/L), 67% dos isolados (67/100) foram incorretamente classificados como resistentes. Cabe destacar que os resultados de CIM para anfotericina B obtidos pelos métodos CLSI e BrCAST/EUCAST apresentaram excelente correlação (ver também o estudo abaixo).

Sensititre YeastOne

Siopi M, Peroukidou I, Beredaki M.-I., Spruijtenburg B, de Groot T, Meis JF, Vrioni G, Tsakris A, Pournaras S e Meletiadiis J (Microbiology Spectrum, 2023; doi: 10.1128/spectrum.04431-22) compararam o Sensititre YeastOne (SYO) com o método CLSI para o teste de sensibilidade antifúngica (AFST) de 65 isolados clínicos de *C. auris*. A CIM modal (intervalo) de inibição do crescimento determinada pelo CLSI foi inferior à CIM colorimétrica obtida pelo SYO [1 (0,25–1) versus 2 (1–8) mg/L, respectivamente]. A concordância essencial (EA) entre o CLSI e o SYO colorimétrico foi de 29%, e a concordância categórica (CA) foi de apenas 11%, com 89% de erros maiores (MaE).

Os erros maiores foram eliminados quando foi utilizado o valor-limite superior do tipo selvagem (WT-UL) específico do SYO de 8 mg/L (0% de MaE). Alternativamente, a utilização dos pontos finais de inibição de crescimento do SYO, definidos como CIM-1 (75% de inibição do crescimento) ou CIM-2 (50% de inibição do crescimento), resultou em concordância categórica de 88% com 12% de MaE e de 97% com 3% de MaE, respectivamente.

Em conclusão, o SYO superestimou a resistência à anfotericina B em isolados de *C. auris* quando foram utilizadas as CIMs colorimétricas, conforme as instruções do fabricante, e o ponto de corte do CDC de $R \geq 2$ mg/L. Esse problema pode ser minimizado tanto pelo uso do WT-UL específico do método (8 mg/L) para as CIMs colorimétricas quanto pela determinação dos pontos finais de CIM baseados na inibição do crescimento, independentemente da mudança de cor.

Ao aplicar os pontos de corte recentemente estabelecidos pelo BrCAST/EUCAST para anfotericina B ($I \leq 2$ mg/L; $R > 2$ mg/L), 36,9% dos isolados (24/65) foram incorretamente classificados como resistentes.