

Avaliação das metodologias M.I.C.E.[®], Etest[®] e microdiluição em caldo para determinação da CIM em isolados clínicos

Primeira submissão em 02/02/11
Última submissão em 02/02/11
Aceito para publicação em 02/03/11
Publicado em 20/04/11

Evaluation of M.I.C.E.TM, Etest[®] and CLSI broth microdilution methods for antimicrobial susceptibility testing of nosocomial bacterial isolates

Eloiza Helena Campana¹; Cecília Godoy Carvalhaes²; Paula Peraro Barbosa³; Antonia Maria de Oliveira Machado⁴; Ana Maria de Paula⁵; Ana Cristina Gales⁶

unitermos	resumo
Concentração inibitória mínima	<p>Introdução: As fitas Oxoid[®] M.I.C.Evaluator[®] (M.I.C.E., Thermo Fisher Scientific, Basingstoke, UK), recém-lançadas no mercado brasileiro, representam uma alternativa rápida para a realização de testes de sensibilidade a antimicrobianos (TSA). Objetivo: Avaliar o desempenho da metodologia M.I.C.E. em relação à microdiluição em caldo (teste de referência) e ao Etest[®] (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France). Material e métodos: Foram selecionados 160 isolados bacterianos, sendo <i>P. aeruginosa</i> (20), <i>Acinetobacter</i> spp. (20), <i>K. pneumoniae</i> (20), <i>E. coli</i> (20), <i>S. aureus</i> (20), <i>Staphylococcus</i> coagulase-negativa (20), <i>E. faecalis</i> (20) e <i>E. faecium</i> (20). Os TSAs foram realizados por microdiluição em caldo, Etest e M.I.C.E., seguindo-se as recomendações do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009) e dos respectivos fabricantes. Os resultados foram interpretados segundo os critérios estabelecidos pelo CLSI e comparados por análise de regressão. Resultados: Avaliando-se todas as combinações de antimicrobianos vs. a espécie bacteriana, o desempenho da metodologia M.I.C.E. foi muito bom, apresentando uma concordância geral (variação na concentração inibitória mínima [CIM] $\pm 1\text{-log}_2$) > 90%, exceto para cefotaxima (85%) e vancomicina (76,3%), quando em comparação com os resultados da metodologia de referência. Quando comparado com o Etest, a metodologia M.I.C.E. apresentou concordância geral > 96%, com exceção para a combinação amoxicilina/ácido clavulânico (67,5%). Conclusão: Os resultados do TSA obtidos pela metodologia M.I.C.E. apresentaram boa correlação com aqueles obtidos pela microdiluição em caldo e pelo Etest, indicando que essa metodologia é uma alternativa rápida para a determinação da CIM pelos laboratórios de microbiologia clínica. Atenção especial deve ser dada à determinação da CIM para a combinação amoxicilina/ácido clavulânico.</p>
Antimicrobianos	
Teste de sensibilidade a antimicrobianos	
Etest	
M.I.C.E.	

abstract

key words

Introduction: The Oxoid[®] M.I.C.EvaluatorTM methodology (M.I.C.E., Thermo Fisher Scientific, Basingstoke, UK), recently released into the market, represents a rapid alternative to antimicrobial susceptibility testing. **Objective:** The objective of this study was to evaluate the performance of M.I.C.E. methodology in relation to broth microdilution (reference test) and Etest[®] (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France). **Material and method:** A total of 160 bacterial isolates were collected comprising the following species: *P. aeruginosa* (20), *Acinetobacter* spp. (20), *K. pneumoniae* (20), *E. coli* (20), *S. aureus* (20), coagulase-negative *Staphylococcus* (20), *E. faecalis* (20) and *E. faecium* (20). Following Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) standards (2009) and the manufacturers' recommendations, antimicrobial susceptibility testing was performed using broth microdilution method, Etest and M.I.C.E. The results were interpreted according to the criteria established by CLSI and compared through regression analysis. **Results:** All antimicrobial combinations vs. bacterial species were evaluated and M.I.C.E. methodology yielded good results with general correlation (MIC variation $\pm 1\text{-log}_2$) $\geq 90\%$, except for cefotaxime (85%) and vancomycin (76.3%) when compared with the reference method. The M.I.C.E. results compared to Etest showed general correlation ($\geq 96\%$), except for amoxicillin/clavulanic acid (67.5%) combination. **Conclusion:** AST results obtained from M.I.C.E. methodology showed a good correlation with those from broth microdilution and Etest, which corroborates its time effectiveness in the determination of MIC. However, the combination of amoxicillin/clavulanic acid requires further attention.

Minimal inhibitory concentration
Antimicrobial
Antimicrobial susceptibility testing
Etest
M.I.C.E.

1. Farmacêutica e bioquímica; mestre em Ciências; Laboratório Alerta/Laboratório Especial de Microbiologia Clínica (LEMC) da disciplina de Infectologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).
2. Patologista Clínica; mestre em Ciências; Laboratório Alerta/LEMC da disciplina de Infectologia da UNIFESP.
3. Biomédica; Laboratório Alerta/LEMC da disciplina de Infectologia da UNIFESP.
4. Professora afiliada do Departamento de Medicina da UNIFESP; diretora do Laboratório Central do Hospital São Paulo da UNIFESP.
5. Bióloga; diretora da Divisão de Microbiologia Brasil da Thermo Fisher Scientific, São Paulo.
6. Professora adjunta do Departamento de Medicina da UNIFESP; Laboratório Alerta/LEMC da disciplina de Infectologia da UNIFESP; pesquisadora do Conselho Nacional de Ciência e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), Ministério da Ciência e Tecnologia (Processo n. 307816/2009-5).
Este estudo foi parcialmente financiado pela Thermo Fisher Científica, Divisão de Microbiologia Brasil, São Paulo, Brasil.

Introdução

A determinação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, o antibiograma, é uma das principais atividades realizadas por laboratórios de microbiologia clínica. Os resultados desses testes auxiliam na seleção da terapia antimicrobiana mais adequada. Para a determinação do perfil de sensibilidade, várias metodologias estão disponíveis, porém aquelas consideradas padrão-ouro, como a diluição em ágar e a microdiluição em caldo, são laboriosas para serem executadas por um laboratório de rotina, embora forneçam resultados quantitativos (concentração inibitória mínima [CIM]). Por outro lado, técnicas qualitativas, como a disco difusão, apesar de serem de fácil execução não são capazes de prever a CIM.

Para o tratamento de infecções leves, a determinação da CIM nem sempre é necessária. No entanto, para o tratamento de infecções graves, principalmente as que acometem pacientes em unidades de terapia intensiva (UTIs), a determinação da CIM auxilia não somente na seleção da terapia antimicrobiana, mas orienta o esquema posológico mais adequado. A determinação da CIM também é necessária para microrganismos ou combinações de microrganismos/antimicrobianos, em que o teste de disco difusão não é confiável, por exemplo, para glicopeptídeos e *S. aureus*⁽¹⁰⁾. Dessa maneira, metodologias de fácil execução que forneçam a CIM com acurácia são altamente desejáveis.

A metodologia de gradiente preestabelecido de antimicrobianos em uma fita plástica, como o Etest® (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France), é conveniente na rotina laboratorial por ser versátil e apresentar boa concordância com as metodologias de referência^(1, 2, 11). Recém-lançadas no mercado brasileiro, as fitas Oxoid® M.I.C.Evaluator® (M.I.C.E., Thermo Fisher Scientific, Basingstoke, UK), representam uma alternativa para a determinação da CIM em teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA).

Este estudo teve como objetivo avaliar comparativamente o desempenho das fitas M.I.C.E. em relação ao teste de referência empregado, microdiluição em caldo, e ao Etest.

Material e métodos

Amostras bacterianas

Foram selecionados aleatoriamente 160 isolados bacterianos, sendo 20 isolados de cada uma das seguintes espécies: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Klebsiella*

pneumoniae, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase-negativa*, *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*. Essas amostras foram coletadas nos últimos cinco anos de pacientes internados no Hospital São Paulo e estavam armazenadas no banco de microrganismos do Laboratório Especial de Microbiologia Clínica (LEMC). Apenas uma amostra por paciente foi incluída no estudo. A identificação bacteriana foi realizada pelo Laboratório de Microbiologia do Hospital São Paulo, conforme os métodos de identificação bacteriana empregados rotineiramente. As amostras foram subcultivadas por duas vezes em ágar sangue antes da realização dos TSAs para garantir que os isolados bacterianos não apresentavam contaminação e estavam metabolicamente ativos.

Teste de sensibilidade a antimicrobianos

Os TSAs foram realizados pela metodologia de microdiluição em caldo, considerada a técnica padrão-ouro, e por meio das fitas de gradiente antimicrobiano Etest (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France) e M.I.C.E. (Thermo Fisher Scientific, Basingstoke, UK), segundo a recomendação do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)⁽³⁾ e dos fabricantes, respectivamente.

As seguintes combinações de patógenos e antimicrobianos foram avaliadas: *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. (grupo não fermentadores; gentamicina, ciprofloxacina e imipenem); *K. pneumoniae* e *E. coli* (grupo *Enterobacteriaceae*; ampicilina, amoxicilina/clavulanato, gentamicina, ciprofloxacina, cefotaxima e imipenem); *S. aureus* e SCN (grupo estafilococos; ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, oxacilina, linezolida e vancomicina); *E. faecalis* e *E. faecium* (grupo enterococos; ampicilina, gentamicina *high level* [HL], linezolida e vancomicina). A interpretação da CIM foi realizada, independentemente, por três observadores para a confirmação dos resultados. Para o controle de qualidade dos testes de sensibilidade, utilizaram-se as amostras da American Type Culture Collection (ATCC®): *E. coli* ATCC® 25922, *P. aeruginosa* ATCC® 27853, *S. aureus* ATCC® 29213 e *E. faecium* ATCC® 29212.

Para as três metodologias, o inóculo bacteriano foi preparado em caldo Müller-Hinton (MH) e a turbidez ajustada a 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml), utilizando o turbidímetro digital (Baxter®, Sacramento, EUA).

A mesma suspensão do inóculo bacteriano foi semeada em placa de ágar MH e em até 15 minutos após sua preparação e as fitas Etest ou M.I.C.E., contendo os antimicrobianos especificados anteriormente, foram dispensados sobre a placa. As placas foram incubadas a 35°C por um período de

16-24 horas em aerobiose. A leitura da CIM foi determinada como a concentração de antimicrobiano correspondente à intersecção entre a fita de Etest ou M.I.C.E. e a área de crescimento bacteriano. Para agentes bacteriostáticos, como a linezolida, a CIM, pelas metodologias Etest e M.I.C.E., foi determinada como a concentração que inibiu 90% e 80% do crescimento bacteriano, respectivamente. As CIMs foram ajustadas à escala logarítmica na base 2. Na **Figura** podemos observar o teste de sensibilidade para quatro isolados bacterianos pelas metodologias Etest e M.I.C.E..

Resumidamente, as placas de microdiluição em caldo foram confeccionadas manualmente, utilizando-se o sal dos antimicrobianos relacionados anteriormente diluídos em água milli-Q e conservados em freezer a -70°C até o momento da utilização. Após serem inoculadas, as placas foram incubadas a 35°C, em ar ambiente, por 16-24 horas. As CIMs para cada amostra foram determinadas após o período de incubação mediante a leitura visual das placas. A CIM foi definida como a menor concentração de antimicrobiano

capaz de inibir o crescimento bacteriano. As amostras foram classificadas em sensíveis ou resistentes, empregando-se os limites de sensibilidade preconizados pelo CLSI⁽⁴⁾.

Análise estatística

Os resultados das CIMs obtidas pelas técnicas de microdiluição em caldo, Etest e M.I.C.E. foram comparados por análise de regressão. A concordância geral foi definida quando o resultado da CIM obtida pelo Etest ou M.I.C.E. variou $\pm 1\text{-log}_2$ diluição da CIM obtida pela microdiluição em caldo. O resultado foi considerado discordante quando houve diferença $\geq 2\text{-log}_2$ diluições entre os resultados. Os resultados também foram interpretados em relação à concordância da categoria de sensibilidade. Eles foram considerados concordantes quando as CIMs obtidas pelas diferentes metodologias encontravam-se em uma mesma categoria de sensibilidade estabelecida pelo CLSI. Além disso, as taxas de erros leves, graves e muito graves também foram calculadas

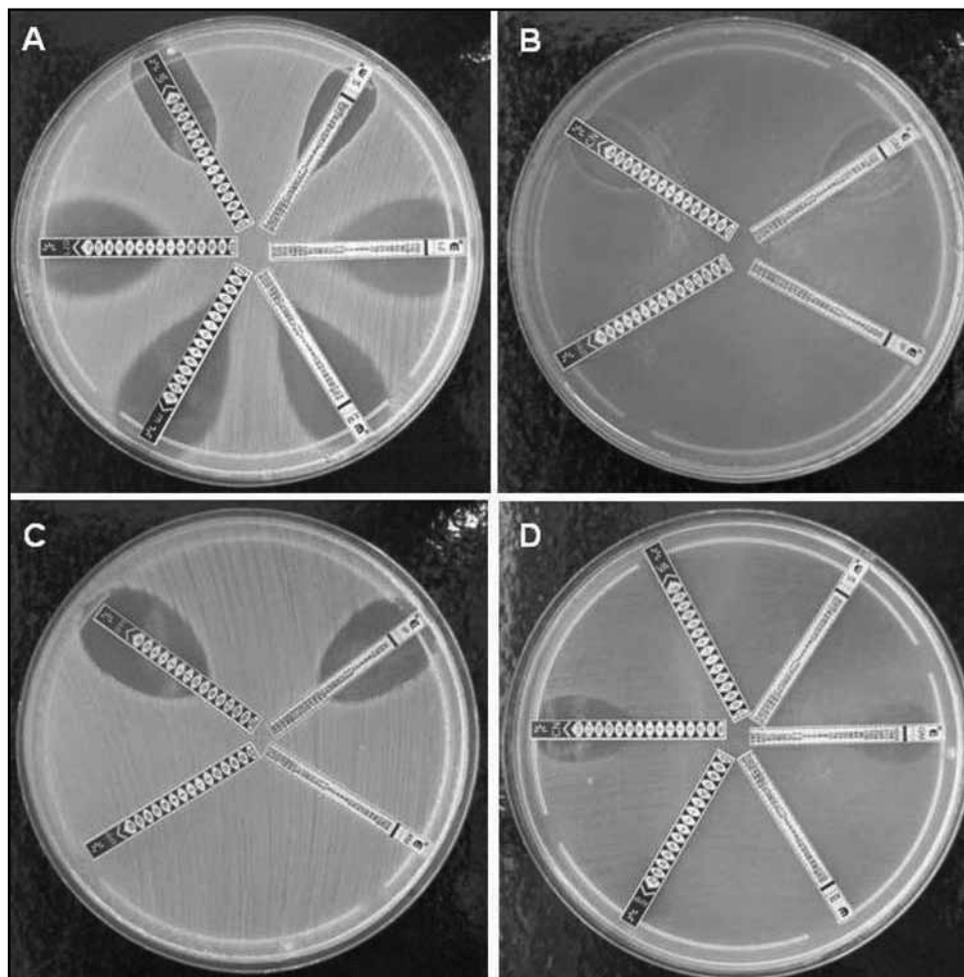


Figura – Teste de sensibilidade a antimicrobianos pelas fitas MICE e Etest. (A) *S. aureus*: VA, vancomicina; LZD, linezolida; LZ, linezolida; E, eritromicina; EM, eritromicina; (B) *P. aeruginosa*: CN, gentamicina; GM, gentamicina; IPM, imipenem; IP, imipenem; (C) *K. pneumoniae*: IPM, imipenem; IP, imipenem; AMP, ampilicina; AM, ampilicina; (D) *E. faecium*: VA, vancomicina; CN, gentamicina de alto nível; GM, gentamicina de alto nível; AMP, ampilicina; AM, ampilicina.

segundo os critérios do CLSI⁽⁷⁾. Foram definidas como erro leve a mudança da categoria sensível ou resistente para a intermediária ou desta para a sensível ou resistente entre as metodologias de referência e avaliada; erro grave, a mudança da categoria sensível pela metodologia de referência para resistente pela metodologia testada (falsa-resistência pela metodologia teste); e erro muito grave, a mudança da categoria de resistente pela metodologia de referência para a sensível pela metodologia testada (falsa-sensibilidade pela metodologia teste). Foram consideradas aceitáveis taxas de até 1,5% para erros muito graves, 3% para erros graves e 10% para erros leves⁽⁴⁾. Os resultados obtidos pela metodologia M.I.C.E. também foram comparados com os obtidos pelo Etest. Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa SPSS® for Windows, versão 17.0 (IBM Corporation®, Nova York, EUA, 2008).

Resultados

Desempenho das fitas M.I.C.E. e Etest em relação ao teste de referência, microdiluição em caldo

Um total de 160 isolados clínicos e 11 antimicrobianos diferentes foram testados, compondo 38 combinações de antimicrobianos/microrganismos (**Tabela 1**).

As taxas de concordância geral por categoria e os erros apresentados pela metodologia M.I.C.E. em relação ao teste de referência podem ser observadas na **Tabela 2**. De maneira geral, a concordância geral, considerando-se a variação de $\pm 1\text{-log}_{2}$, foi de 93,7% e a concordância categórica, 94,6%. Todos os antimicrobianos obtiveram concordância geral $\geq 90\%$ entre essas metodologias, com exceção da cefotaxima (85%) e da vancomicina (76,3%). Apesar de esses dois antimicrobianos apresentarem resultados de concordância geral $< 90\%$, as porcentagens de erros foram consideradas nos limites aceitáveis.

A concordância entre as categorias de sensibilidade foi excelente para todos os antimicrobianos, exceto para a combinação de amoxicilina-clavulanato, que foi de apenas 62,5%. Foi observada uma tendência a CIMs mais elevadas pela metodologia M.I.C.E. Taxas superiores àquelas consideradas aceitáveis para erros leves (30%) e erros graves (7,5%) foram constatadas para essa combinação, porém, não houve a detecção de erros muito graves.

Da mesma maneira, os resultados obtidos pela metodologia Etest apresentaram excelente correlação com a microdiluição em caldo para todos os antimicrobianos testados, exceto para cefotaxima (82,5%) e vancomicina (88,8%) (**Tabela 3**). A concordância entre categorias para a combinação de amoxicilina-clavulanato foi de apenas 77,5%, semelhante aos resultados do M.I.C.E., porém com

Tabela 1 Concordância geral das fitas M.I.C.E. e Etest em relação ao teste de referência, microdiluição em caldo, para cada grupo de microrganismo

Antimicrobianos	<i>Enterobacteriaceae</i> ^a (40)		Não fermentadores ^b (40)		Estafilococos ^c (40)		Enterococos ^d (40)	
	MICE	Etest	MICE	Etest	MICE	Etest	MICE	Etest
AMP	100%	100%					95%	100%
AMX/CLV	90%	97,5%						
CIP	100%	97,5%	97,5%	97,5%	85%	95%		
CTX	85%	82,5						
ERI					100%	100%		
GEN	100%	97,5%	95%	92,5%	95%	97,5%		
GEN HL							100%	100%
IMI	97,5%	100%	100%	100%				
LNZ					97,5%	100%	100%	100%
OXA					90%	95%		
VAN					72,5%	90%	80%	87,5%
Total	95,4%	95,8%	97,5%	96,7%	90%	96,3%	93,8%	96,9%

AMP: ampicilina; AMX/CLV: amoxicilina/clavulanato; CIP: ciprofloxacina; CTX: cefotaxima; ERI: eritromicina; GEN: gentamicina; GEN HL: gentamicina de alto nível; IMI: imipenem; LNZ: linezolida; OXA: oxacilina; VAN: vancomicina; ^a: K. pneumoniae (20) e E. coli (20); ^b: P. aeruginosa (20) e Acinetobacter spp. (20); ^c: S. aureus (20) e SCN (20); ^d: E. faecalis (20) e E. faecium (20).

Tabela 2 **Concordância e erros dos resultados das fitas M.I.C.E. em relação ao teste de referência (microdiluição em caldo)**

Antimicrobianos	N. de testes	Concordância (MIC \pm 1-log ₂)	(%)	Discordância	(%)	Erros leves (%)	Erros graves (%)	Erros muito graves (%)	Concordância por categoria (%)
AMP	80	78	97,5	2	2,5	1,3	0	0	98,8
AMX/CLV	40	36	90	4	10	30	7,5	0	62,5
CIP	120	113	94,2	7	5,8	3,3	0	0	96,7
CTX	40	34	85	6	15	2,5	0	0	97,5
ERI	40	40	100	0	0	2,5	0	0	97,5
GEN	120	116	96,7	4	3,3	7,5	0	0	92,5
HEN HL	40	40	100	0	0	0	0	0	100
IMI	80	79	98,8	1	1,3	0	0	0	100
LNZ	80	79	98,8	1	1,3	0	0	0	100
OXA	40	36	90	4	10	0	0	0	100
VAN	80	61	76,3	19	23,8	7,5	0	0	92,5
Total	760	712	93,7	48	6,3	4,6	0,8	0	94,6

AMP: ampicilina; AMX/CLV: amoxicilina/clavulanato; CIP: ciprofloxacina; CTX: cefotaxima; ERI: eritromicina; GEN: gentamicina; GEN HL: gentamicina de alto nível; IMI: imipenem; LNZ: linezolida; OXA: oxacilina; VAN: vancomicina.

Tabela 3 **Concordância e erros dos resultados das fitas Etest em relação ao teste de referência (microdiluição em caldo)**

Antimicrobianos	N. de testes	Concordância (MIC \pm 1-log ₂)	(%)	Discordância	(%)	Erros leves (%)	Erros graves (%)	Erros muito graves (%)	Concordância por categoria (%)
AMP	80	80	100	0	0	1,3	0	0	98,8
AMX/CLV	40	39	97,5	1	2,5	20	0	2,5	77,5
CIP	120	115	95,8	5	4,2	3,3	0	0	96,7
CTX	40	33	82,5	7	17,5	2,5	0	0	97,5
ERI	40	40	100	0	0	0	0	0	100
GEN	120	114	95	6	5	9,2	0	0,8	90
GEN HL	40	40	100	0	0	0	0	0	100
IMI	80	80	100	0	0	0	0	0	100
LNZ	80	80	100	0	0	0	0	0	100
OXA	40	38	95	2	5	0	0	0	100
VAN	80	71	88,8	9	11,2	6,3	0	0	93,8
Total	760	730	96,1	30	3,9	3,9	0	0,3	95,8

AMP: ampicilina; AMX/CLV: amoxicilina/clavulanato; CIP: ciprofloxacina; CTX: cefotaxima; ERI: eritromicina; GEN: gentamicina; GEN HL: gentamicina de alto nível; IMI: imipenem; LNZ: linezolida; OXA: oxacilina; VAN: vancomicina.

resultados apresentando tendência a valores inferiores aos da metodologia de referência.

Desempenho das fitas M.I.C.E. em relação ao Etest

A avaliação geral dos testes das fitas de sensibilidade M.I.C.E. e Etest em relação ao teste de referência pode ser observada na **Tabela 4**. A concordância geral entre as fitas Etest e M.I.C.E., considerando a variação de $\pm 1\text{-log}_2$, foi de 96,7% e a concordância de categorias, 95,1% (**Tabela 5**). No entanto, para a combinação amoxicilina-clavulanato, obtivemos apenas 67,5% de concordância geral, 40% de erros leves e 15% de erros graves, o que gerou uma concordância de categorias de apenas 45%.

Discussão

Em geral, todos os antimicrobianos obtiveram uma concordância geral $\geq 90\%$ para a fita M.I.C.E. em relação ao teste de referência, com exceção da cefotaxima e da vancomicina. A baixa taxa de concordância (76,3%) para vancomicina provavelmente é decorrente das diferenças na detecção da CIM desse

agente antimicrobiano pelas técnicas baseadas na difusão em ágar e microdiluição em caldo. Estudos anteriores reportaram que as CIMs para vancomicina obtidas por técnicas de difusão ou diluição em ágar apresentaram CIMs superiores àquelas determinadas pela técnica de microdiluição em caldo^(5, 8, 9).

A concordância geral entre a metodologia M.I.C.E. e a microdiluição em caldo, método de referência, foi muito boa (93,7%) e semelhante àquela obtida pelo Etest (96,1%). Esses índices foram superiores aos observados por Mushtaq *et al.* ($> 88\%$ para M.I.C.E. e $> 86\%$ para Etest)⁽⁶⁾. Os autores relataram também taxas semelhantes de concordância geral para cefotaxima (89,9%) diante do grupo *Enterobacteriaceae*, mas não para a combinação vancomicina/cocos Gram-positivos. Essa diferença poderia ser explicada pelo método de referência distinto utilizado em nosso estudo (ágar diluição vs. microdiluição em caldo)^(5, 9). No mesmo trabalho, Mushtaq *et al.* relataram uma fraca correlação entre as fitas de imipenem diante do grupo *Enterobacteriaceae* (81,7% e 82,5% para M.I.C.E. e Etest, respectivamente). Em contrapartida, nossos resultados mostraram excelente desempenho dessas fitas (97,5% e 100% para M.I.C.E. e Etest, respectivamente). Esses resultados discrepantes podem ser explicados pelas diferentes espécies de enterobactérias testadas por cada um dos estudos. Mushtaq *et al.* incluíram espécies de *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. e

Tabela 4 Concordância dos resultados das fitas M.I.C.E. e Etest em relação ao teste referência (microdiluição em caldo)

Antimicrobianos	N. de testes	MICE		Etest	
		Concordância geral (%)	Concordância por categoria (%)	Concordância geral (%)	Concordância por categoria (%)
AMP	80	97,5	98,8	100	98,8
AMX/CLV	40	90	62,5	97,5	77,5
CIP	120	94,2	96,7	95,8	96,7
CTX	40	85	97,5	82,5	97,5
ERI	40	100	97,5	100	100
GEN	120	96,7	92,5	95	90
GEN HL	40	100	100	100	100
IMI	80	98,8	100	100	100
LNZ	80	98,8	100	100	100
OXA	40	90	100	95	100
VAN	80	76,3	92,5	88,8	93,8
Total	760	93,7	94,6	96,1	95,8

AMP: ampicilina; AMX/CLV: amoxicilina/clavulanato; CIP: ciprofloxacina; CTX: cefotaxima; ERI: eritromicina; GEN: gentamicina; GEN HL: gentamicina de alto nível; IMI: imipenem; LNZ: linezolida; OXA: oxacilina; VAN: vancomicina.

Tabela 5 Concordância e erros dos resultados das fitas M.I.C.E. em relação às fitas Etest

Antimicrobianos	N. de testes	Concordância (MIC ± 1-log ₂)	(%)	Discordância	(%)	Erros leves (%)	Erros graves (%)	Erros muito graves (%)	Concordância por categoria (%)
AMP	80	77	96,3	3	3,8	0	0	0	100
AMX/CLV	40	27	67,5	13	32,5	40	15	0	45
CIP	120	117	97,5	3	2,5	3,3	0	0	96,7
CTX	40	39	97,5	1	2,5	0	0	0	100
ERI	40	40	100	0	0	2,5	0	0	97,5
GEN	120	116	96,7	4	3,3	8,3	0	0	91,7
GEN HL	40	40	100	0	0	0	0	0	100
IMI	80	80	100	0	0	0	0	0	100
LNZ	80	79	98,8	1	1,3	0	0	0	100
OXA	40	40	100	0	0	0	0	0	100
VAN	80	80	100	0	0	0	0	0	100
Total	760	735	96,7	25	3,3	4,1	0,8	0	95,1

AMP: ampicilina; AMX/CLV: amoxicilina/clavulanato; CIP: ciprofloxacina; CTX: cefotaxima; ERI: eritromicina; GEN: gentamicina; GEN HL: gentamicina de alto nível; IMI: imipenem; LNZ: linezolida; OXA: oxacilina; VAN: vancomicina.

Salmonella spp., além de espécies de *E. coli* e *Klebsiella* spp. Segundo os autores, a baixa concordância para imipenem nesse grupo poderia ser explicada pela subjetividade na leitura das CIMs em espécies de *Proteus*, devido à formação de “véu”.

A metodologia M.I.C.E. apresentou valores aceitáveis para erros leves e graves, de acordo com os limites estabelecidos pelo CLSI, exceto para a combinação amoxicilina-clavulanato. Observamos uma tendência a valores maiores de CIM para essa combinação quando a metodologia M.I.C.E. foi empregada, tanto para isolados de *K. pneumoniae* como de *E. coli*. Essa tendência também foi relatada por Mushtaq *et al.* (78,3% de concordância geral para *Enterobacteriaceae*)⁽⁶⁾. Esse fato pode ser decorrente das características dos isolados clínicos testados ou pode estar relacionado com a estabilidade do clavulanato na fita ou seu armazenamento (2-8°C). Dessa maneira, novos estudos devem ser realizados com maior número de amostras bacterianas para a confirmação desses resultados. Erros muito graves não foram observados por nosso estudo.

As técnicas de M.I.C.E. e Etest apresentaram concordância excelente com a técnica de referência para todos os antimicrobianos avaliados, com exceção da combinação amoxicilina-clavulanato (67,5%), assim como reportado por Mushtaq *et al.* (70,6%)⁽⁶⁾.

Conclusão

À medida que novos métodos para a avaliação da sensibilidade a antimicrobianos tornam-se disponíveis comercialmente, é importante estabelecer seu desempenho em comparação com os métodos de referência, microdiluição em caldo e diluição em ágar. A fita M.I.C.E. foi desenvolvida como uma alternativa para a determinação da CIM, e os resultados obtidos neste estudo demonstraram excelente correlação com a microdiluição em caldo para a maioria dos antimicrobianos testados.

Os dados obtidos indicaram que ambas as fitas (M.I.C.E. e Etest) apresentaram resultados equivalentes entre si e boa acurácia quando comparadas à técnica de microdiluição em caldo recomendada pelo CLSI. É importante salientar que, para a metodologia M.I.C.E., a combinação amoxicilina-clavulanato apresentou tendência a valores de CIM superiores àqueles determinados pelo teste de referência, ao contrário do Etest, em que os resultados apresentaram-se inferiores ao teste de referência.

Portanto, a técnica M.I.C.E. constitui uma excelente opção para a determinação da CIM pelos laboratórios de

microbiologia clínica. A leitura da CIM é facilitada pela alternância de cores na fita, sendo que sua apresentação individual e sua estocagem a 2-8°C são fatores que contribuem para seu fácil manejo na rotina laboratorial.

Agradecimentos

À equipe do Laboratório Central do Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

Referências

1. BIEDENBACH, D. J.; SCHERMER, I. H.; JONES, R. N. Validation of Etest for seven antimicrobial agents using regulatory criteria for the assessment of antimicrobial susceptibility devices. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v. 27, n. 1-2, p. 1-5, 1997.
2. BOLMSTRÖM, A. Determinations of minimum bactericidal concentrations, kill curves, and postantibiotic effects with the Etest technology. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v. 19, n. 3, p. 187-95, 1994.
3. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, seventh edition. Approved standard M7-A8. CLSI, Wayne, PA, 2009.
4. CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentieth Informational Supplement. CLSI, Wayne, PA, 2010.
5. MASON, E. O. *et al.* Vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* vary by detection method and have increased in a pediatric population since 2005. *J Clin Microbiol*, v. 47, n. 6, p. 1628-30, 2009.
6. MUSHTAQ, S. *et al.* Performance of the Oxoid M.I.C.Evaluator™ Strips compared with the Etest[®] assay and BSAC agar dilution. *J Antimicrob Chemother*, v. 65, p. 1702-11, 2010.
7. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Development of *in vitro* susceptibility testing criteria and quality control parameters. Document M23-A2. NCCLS, Wayne, PA, 2000.
8. PAIVA, R. M. *et al.* Vancomycin MIC for methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococcus* isolates: evaluation of the broth microdilution and Etest methods. *J Clin Microbiol*, v. 48, n. 12 p. 4652-4, 2010.
9. SADER, H. S.; RHOMBERG, P. R.; JONES, R. N. Nine-hospital study comparing broth microdilution and Etest method results for vancomycin and daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, v. 53, n. 7, p. 3162-5, 2009.
10. TENOVER, F. C.; BIDDLE, J. W.; LANCASTER, M. V. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*, v. 7, p. 327-32, 2001.
11. VAN KLINGEREN, B. *et al.* A multicenter survey of resistance in The Netherlands using the Etest. *Diagn Microbiol Infect Dis*, v. 19, n. 3, p. 151-6, 1994.

Endereço para correspondência

Eloiza H. Campana
Rua Leandro Duprét, 188
CEP: 04025-010 – São Paulo-SP
Tel./Fax: (11) 5576-4748
e-mail: elocampana@gmail.com