

NOVEDADES 2008
CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI)

Alejandra Corso
Servicio Antimicrobianos
Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. ANLIS “Dr. C. G. Malbrán”

Se describe aquí un breve resumen de las novedades mas relevantes publicadas en enero de **2008** en el documento **M100-S18** del **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**, hasta el año 2004 denominado National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): **“Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement”**. El documento **M100-S18** provee las tablas de interpretación actualizadas de las pruebas de sensibilidad correspondientes a los documentos **M2-A9**: “Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard - Ninth Edition” y **M7-A7**: “Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard - Seventh Edition”, ambos publicados en el año **2006**.

ESTE MATERIAL DE NINGUNA MANERA PRETENDE REEMPLAZAR LOS DOCUMENTOS NI TABLAS ORIGINALES PUBLICADOS EN M100-S18.

Se ha indicado el número de tabla en donde se pueden encontrar las nuevas recomendaciones y si estas son aplicables al **método de difusión** por discos (**M2**) y/o al **método de dilución (M7)**. Las modificaciones o incorporaciones se han resaltado en **“negritas y letra itálica”**.

Algunas de dichas recomendaciones están relacionadas a patógenos con perfiles de resistencia que representan un desafío terapéutico o que muestran dificultades importantes para la detección de algún mecanismo de resistencia. Los puntos en los cuales se han observado los cambios más relevantes de este año son:

- **Enterobacterias**
- **No - Enterobacterias**
- **Estafilococos**
- ***S. pneumoniae***
- **Streptococos β -hemolíticos y Grupo Viridans**

- 1) *Tobramicina para Enterobacterias y P. aeruginosa* (M2-M7): “Probar e informar tobramicina o gentamicina (o ambos). La sensibilidad/resistencia de uno, no predice la del otro.”

- 2) *Se han eliminado varios antibióticos* de las Tablas 1 y 1A (M2-M7), por no encontrarse mas disponibles: *carbenicilina, cefamandol, cefmetazol, cefonicid, cefoperazona, cefotetan, ceftizoxima, gatifloxacin, kanamicina, loracarbef, mezlocilina, netilmicina, esparfloxacin, espectinomicina y ticarcilina (excepto para P. aeruginosa)*.

- 3) *No- Enterobacterias* (M7): *se separó P. aeruginosa de “otras no-enterobacterias”* en las Tablas 2B. Actualmente se dispone de las siguientes 5 Tablas:

Tabla 2B-1: P. aeruginosa

Tabla 2B-2: Acinetobacter spp.

Tabla 2B-3: B. cepacia

Tabla 2B-4: S. maltophilia

Tabla 2B-5: Otras no-enterobacterias

“Otras no-enterobacterias” incluiría: Pseudomonas spp. (no P. aeruginosa) y otros bacilos gram negativos no fermentadores de glucosa, no fastidiosos, pero EXCLUYE: P. aeruginosa, Acinetobacter, B. cepacia, B. mallei (Tabla 2K) B. pseudomallei (Tabla 2K) y S. maltophilia, que ahora poseen sus propias tablas.

- 4) *Acinetobacter* (Tabla1, M2-M7): varias drogas que estaban en el Grupo B ahora se cambiaron al Grupo A, ya que pueden ser importantes para *Acinetobacter no-multi-R, como ampicilina/sulbactam, ciprofloxacina, levofloxacina, gentamicina y tobramicina.*

Se agrega una nota aclarando que *“en el género Acinetobacter, la sensibilidad a colistina y polimixina B solo puede evaluarse por CIM”.*

- 5) *Staphylococcus spp.* (Tabla 1, M2-M7): se movieron varias drogas al *Grupo A*, debido a la *emergencia de CA-MRSA: trimetoprima/sulfametoxazol, clindamicina, azitromicina, claritromicina y eritromicina. Tetraciclina y rifampicina se movieron del grupo C al B.*

Se agregó *daptomicina al Grupo B (sólo se puede evaluar por CIM, no por discos).*

- 6) **Enterococos** (Tabla 1, M2-M7): *se eliminaron* algunos antibióticos *anteriormente propuestos para VRE como: eritromicina, cloranfenicol, tetraciclina y rifampicina.*

Se agregó *daptomicina al Grupo B (sólo se puede evaluar por CIM, no por discos).*

- 7) **Estreptococos** (Tablas 1A, 2H M2-M7): La Tabla 2H- *Streptococcus* spp (no *S. pneumoniae*) que incluía a los *Streptococcus* del grupo viridans y los *Streptococcus* β -hemolíticos se dividió en la Tabla 2H-1 para el Grupo β -hemolítico y la Tabla 2H-2 para el Grupo viridans.

Para los *Streptococcus* β -hemolíticos se agregó daptomicina al Grupo C (sólo se puede evaluar por CIM, no por discos).

Se agrega una aclaración que indica que organismos pertenecen a cada grupo: *“El Grupo β -hemolítico incluye las cepas piogénicas formadoras de colonia grande con antígenos del Grupo A (*S. pyogenes*), C o G y las cepas con antígenos del Grupo B (*S. agalactiae*). Las cepas β -hemolíticas formadoras de colonia pequeña con antígenos del Grupo A, C, F o G (*S. anginosus*, previamente denominado “*S. milleri*” son considerados parte del grupo viridans, y debería usarse el criterio de interpretación de este grupo.”*

- 8) ***Staphylococcus* spp. y CIM de cefoxitina** (Tabla 2C, M7): se proponen puntos de corte de CIM de cefoxitina para predecir *mecA* en *S. aureus* y *S. lugdunensis*. La CIM de cefoxitina para estafilococos coagulasa negativa, todavía no está disponible.

*“Los resultados de la CIM de cefoxitina pueden usarse para predecir la resistencia mediada por *mecA* en *S. aureus* y *S. lugdunensis*. Los aislamientos con CIMs de cefoxitina $\geq 8 \mu\text{g/ml}$, deberían informarse como resistentes a oxacilina. Los aislamientos con CIMs de cefoxitina $\leq 4 \mu\text{g/ml}$, deberían informarse como sensibles a oxacilina.”*

En el **Apéndice B** se propone utilizar una concentración de cefoxitina de 4 $\mu\text{g/ml}$ (método de microdilución en caldo). *“El desarrollo bacteriano en el pocillo después de 16-20 hs de incubación a 33-35°C, es indicativo de la presencia del*

gen mecA en el aislamiento. La ausencia de desarrollo indicaría la ausencia del gen mecA.”

Crecimiento en Cefoxitina 4 µg/ml = Informar Oxacilina R

Sin crecimiento en Cefoxitina 4 µg/ml = Informar Oxacilina S

- 9) ***Staphylococcus* spp. y resistencia inducible a clindamicina por método de CIM** (Tabla 2C, M7): se propone un método para detección resistencia inducible a clindamicina por método de CIM.

“La resistencia inducible a clindamicina se puede detectar usando la combinación de 4 µg/ml de eritromicina y 0.5 µg/ml de clindamicina juntos en un pocillo del panel de microdilución en caldo. La prueba de la microdilución en caldo se aplica solo a los aislamientos resistentes a eritromicina (CIM >8 µg/ml) y sensibles o intermedios a clindamicina (CIMs ≤ 2 µg/ml). Para estos aislamientos, el crecimiento en el pocillo de microdilución podría indicar la presencia de resistencia inducible a clindamicina. Los organismos que no desarrollen en el pocillo luego de incubación o no muestran el achatamiento del halo de clindamicina deberían informarse como dieron, p. ej, sensible o intermedio a clindamicina. Los organismos que desarrollen en el pocillo de microdilución o que muestren el achatamiento del halo de clindamicina adyacente al disco de eritromicina (llamada zona “D”) poseen la resistencia inducible a clindamicina. Tales aislamientos deben informarse como resistentes a clindamicina. Los organismos que presenten una pátina de crecimiento dentro de la zona de inhibición del disco de clindamicina deben informarse como resistentes a clindamicina, presenten o no zona D.”

- Control de calidad del método CIM para la detección de la resistencia inducible a clindamicina en *Staphylococcus* spp. (Tabla 3, M7):

*“Cuando se utiliza el pocillo de la combinación eritromicina/clindamicina para la detección de la resistencia inducible a clindamicina, las cepas recomendadas para el control de calidad son *S. aureus* ATCC BAA-977 (ermA inducible) y *S. aureus* ATCC 29213 (sensible) o *S. aureus* ATCC BAA-976 (eflujo msrA). *S. aureus* ATCC BAA-977 debe mostrar resistencia a clindamicina inducible (p. ej.*

crecimiento en el pocillo), mientras que S. aureus ATCC 29213 y S. aureus ATCC BAA-976 no deben mostrar resistencia inducible a clindamicina (p. ej. ausencia de crecimiento en el pocillo)."

10) *S. pneumoniae* y penicilina (Tabla 2G, M7): se modificó la interpretación de penicilina y se clasificó en 3 categorías.

- *PEN G y meningitis (aislamientos de LCR, vía parenteral)*
- *PEN G y sitio no meníngeo (vía parenteral)*
- *PEN V (vía oral)*

Las nuevas interpretaciones para PEN en Spn son:

- <i>Meningitis (*)</i> :	≤ 0.06 S			≥ 0.12 R
- <i>Sitio no meníngeo (**)</i> :	≤ 2 S	4	I	≥ 8 R
- <i>PEN V oral (***)</i> :	≤ 0.06 S	0.12-1	I	≥ 2 R

CLSI recomienda informar según las 3 interpretaciones cuando el aislamiento se recupere de un sitio no-meníngeo. Solo informar según la interpretación de meningitis cuando el aislamiento provenga de LCR.

(*) Comentario sugerido para usar cuando se informan CIMs de PEN en Spn aislados de LCR:

"El uso de penicilina en meningitis requiere de dosis máximas de PEN IV (p. ej. al menos 3 millones de unidades cada 4 hs en adultos con función renal normal".
"Para aislamientos de LCR, solo informar la interpretación de meningitis".

(**) Comentario sugerido para usar cuando se informan CIMs de PEN en Spn aislados de sitios no-meníngeos (vía parenteral):

"Para el tratamiento de infecciones neumocócicas no-meníngeas debido a cepas con CIMs a PEN ≤ 2 μ g/ml se puede usar PEN IV en dosis de al menos 2 millones de unidades cada 4 hs (12 millones de unidades por día), para adultos con función renal normal. Las cepas con CIM intermedia de 4 μ g/ml podrían requerir dosis de PEN de 18-24 millones de unidades por día".

“Un neumococo de sitio no meningeo con CIM PEN $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ puede ser considerado sensible a ampicilina (parenteral), amoxicilina, amoxicilina /clavulánico, ampicilina/sulbactam, cefepime, cefotaxima y ceftriaxona.”

“Un neumococo de sitio no meningeo con CIM PEN $\leq 0,06 \mu\text{g/ml}$ puede ser considerado sensible a ceftizoxima, ertapenem, imipenem y meropenem.”

“Todos los aislamientos de sitios no-meningeos, se deben informar según las dos interpretaciones “meningitis” y “sitio no meningeo”.

(***) Comentario sugerido para usar cuando se informan CIMs de PEN en Spn aislados de sitios no-meníngeos y se va a utilizar la interpretación de PEN vía oral:

“Un neumococo de sitio no meningeo con CIM PEN $\leq 0.06 \mu\text{g/ml}$ puede ser considerado sensible a las formulaciones orales de ampicilina, amoxicilina, amoxicilina /clavulánico, cefaclor, cefdinir, cefditoren, cefpodoxima, cefprozil, cefuroxima y loracarbef”.

“Un aislamiento para el cual la CIM a PEN es $\geq 0.12 \mu\text{g/ml}$, podría ser evaluado por su potencial sensibilidad a otros β -lactámicos para los cuales se dispone de criterio de interpretación”.

- Cefuroxima: se reemplazaron “cefuroxima acetil” y “cefuroxima sódica” por “cefuroxima de uso oral” y “cefuroxima de uso parenteral”, respectivamente.

11) Enterobacterias y carbapenemasas: Se agrega un comentario en la Tabla 2A (M2-M7) de Enterobacterias para la detección de carbapenemasa, incluyendo KPC.

*“En algunas regiones geográficas, se han estado detectando con mayor frecuencia carbapenemasas (carbapenemasa KPC de *K. pneumoniae* y otras β -lactamasas que hidrolizan carbapenemes) en aislamientos clínicos de Enterobacteriaceae, particularmente en *K. pneumoniae*. Los aislamientos clínicos de Enterobacteriaceae que porten estas β -lactamasas podrían ser resistentes a la terapia con carbapenemes, a pesar de su aparente sensibilidad “in vitro” con los puntos de corte actuales de la CLSI.”*

“Las Enterobacteriaceae que son resistentes a las cefalosporinas de espectro extendido, y presentan CIMs de carbapenemes (ertapenem, imipenem, o meropenem) de 2 o 4 $\mu\text{g/ml}$, podrían producir carbapenemasas de tipo KPC u otra. En regiones donde las carbapenemasas en enterobacterias son raras, estos

aislamientos deberían enviarse a un laboratorio de referencia para su confirmación.”

12) Salmonella y Shigella vs quinolonas: en la Tabla 2A (M2-M7) se modifica un comentario ya existente:

“Cuando se evalúan aislamientos fecales de *Salmonella* y *Shigella* spp., de rutina solo debería informarse ampicilina, una quinolona **y/o una fluorquinolona** y trimetoprima/sulfametoxazol. Adicionalmente, en aislamientos de *Salmonella* spp. extraintestinal deben evaluarse e informarse cloranfenicol y una cefalosporina de tercera generación.”

13) Lectura de zonas de inhibición: En prácticamente todas las *Tablas de M2*, se agrega un *comentario relacionado a la forma correcta de realizar la lectura de las zonas de inhibición:*

Este comentario es nuevo para las Tablas M100-S18, pero actualmente ya se disponía de esta información en el documento M2-A9, donde se describe con precisión toda la metodología de difusión, motivo por lo cual no se incluirá en este resumen de “Novedades CLSI 2008”.

Sólo dos comentarios particulares para:

- *Staphylococcus* spp. (Tabla 2C): **usar luz transmitida para leer linezolid, oxacilina y vancomicina. Aquellos organismos con resultados de no-sensibilidad a linezolid deberían ser confirmados usando un método de CIM.**

- *Enterococcus* spp. (Tabla 2D): usar luz transmitida para leer vancomicina. Cualquier crecimiento discernible dentro de la zona de inhibición es indicativo de resistencia a vancomicina.

14) Nuevos Apéndices:

Se incluyen cuatro nuevos Apéndices: A, B, C, D y E con información pre-existente condensada en formato de Tablas.

Apéndice A: Métodos confirmatorios y de screening para detección de β -lactamasas de espectro extendido en *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli* y *P. mirabilis*.

Apéndice B: Métodos de screening para S. aureus y S. lugdunensis: producción de β -lactamasas, resistencia a oxacilina, resistencia a oxacilina mediada por el gen mecA usando cefoxitina, sensibilidad reducida a vancomicina y resistencia inducible a clindamicina,

Apéndice C: Métodos de screening para Staphylococcus coagulasa- negativa (excepto S. lugdunensis): producción de β -lactamasas, resistencia a oxacilina mediada por el gen mecA usando cefoxitina y resistencia inducible a clindamicina,

Apéndice D: Método de screening para detección de alto nivel de resistencia a aminoglucósidos y resistencia a vancomicina en Enterococcus spp.

Apéndice E: Sugerencias para la verificación de resultados de las pruebas de sensibilidad y confirmación de la identificación de los organismos.