

NOVEDADES 2016

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI)

Melina Rapoport

Servicio Antimicrobianos

Laboratorio Nacional de Referencia en Resistencia a los Antimicrobianos
Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. ANLIS “Dr. C. G. Malbrán”

Se describe aquí un breve resumen de las novedades más relevantes publicadas en enero de **2016** en el documento **M100-S 26ed** del **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): “Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-sixth Informational Supplement”**. El documento **M100-S 26ed** provee las tablas de interpretación actualizadas de las pruebas de sensibilidad correspondientes a los documentos **M2-A12: “Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard - Twelfth Edition”** y **M7-A10: “Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard – Tenth Edition”**. Los documentos M2-A12 y M7-A10 fueron actualizados en 2015.

ESTE MATERIAL DE NINGUNA MANERA PRETENDE REEMPLAZAR LOS DOCUMENTOS NI TABLAS ORIGINALES PUBLICADOS EN M100-S 26ed.

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. Se han agregado notas particulares en algunos puntos, con aclaraciones y recomendaciones del Laboratorio Nacional de Referencia (*“Nota del LNR”*).

A partir de 2016, CLSI incorporó una versión “de solo-lectura” en su página web para el documento M100, de manera que actualmente éste documento es de libre acceso en

<http://clsi.org/m100>

En este documento se incluyeron “Novedades” relevantes en:

- Nueva definición sobre pruebas de sensibilidad: RUTINA, SUPLEMENTARIAS (no de rutina), TAMIZAJE, ANTIBIOTICO SUBROGANTE o EQUIVALENTE; **Cefazolina** para infección urinaria no complicada (IUNoC); Punto de corte de oxacilina para definir meticilino resistencia en *Staphylococcus pseudointermedius*; Punto de corte epidemiológico (Epidemiological Cutoff Value – ECV) para **Azitromicina** vs *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei*; Sección especial en la Tabla 2A-1 para *Salmonella spp.* y **Quinolonas**; Nuevos Puntos de corte: **Ceftolozane-tazobactam** para *Enterobacteriaceae* y *P. aeruginosa*. **Oritavancin**, **telavancin** y **tedizolid** para *S. aureus*, **enterococos**, **streptococos grupo viridans** y **streptococos beta-hemolíticos**; Incorporación de nuevos microorganismos al documento **M45 3ed (2015)**.

1.- Nueva definición sobre pruebas de sensibilidad.

- Pruebas de **RUTINA**: Sensibilidad por los métodos de difusión con discos, y CIM por dilución en caldo o agar.

- Pruebas **SUPLEMENTARIAS** (no de rutina): son pruebas que detectan sensibilidad o resistencia a una droga o clase de drogas por una metodología distinta de los métodos de rutina, y no necesitan ser confirmadas por una prueba adicional. Algunas de estas pruebas suplementarias sirven para identificar un mecanismo de resistencia específico. El CLSI divide a las pruebas suplementarias en **NECESARIAS** u **OPCIONALES**.

Pruebas **suplementarias necesarias**:

Supplemental Test	Organisms	Test Description	Required for:	Table Location
Inducible clindamycin resistance	<ul style="list-style-type: none"> • <i>S. aureus</i> • CoNS • <i>Streptococcus pneumoniae</i> • <i>Streptococcus spp.</i> β-hemolytic Group 	Broth microdilution or disk diffusion with clindamycin and erythromycin tested together	Isolates that test erythromycin resistant and clindamycin susceptible or intermediate before reporting the isolate as clindamycin susceptible	3G
β -lactamase	• CoNS	Chromogenic cephalosporin	Isolates that test penicillin susceptible	3D
β -lactamase	• <i>S. aureus</i>	Chromogenic cephalosporin penicillin disk diffusion zone-edge test	Isolates that test penicillin susceptible	3D

“Nota del LNR”: Para el LNR la detección de β -lactamasa en *SCN* y *S. aureus* es considerada una prueba **opcional**.

Pruebas **suplementarias opcionales**:

Supplemental Test	Organisms	Test Description	Optional for:	Table Location
ESBL	<ul style="list-style-type: none"> • <i>E. coli</i> • <i>Klebsiella</i> • <i>Proteus mirabilis</i> 	Broth microdilution or disk diffusion clavulanate inhibition test for ESBLs	Isolates that have reduced susceptibility to cephalosporins Results that indicate presence or absence of ESBLs	3A
MHT	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterobacteriaceae</i> 	Growth augmentation assay for detection of carbapenem hydrolysis	Isolates that have reduced susceptibility to carbapenems Results that indicate presence or absence of some carbapenemases	3B, 3B-1
Carba NP	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterobacteriaceae</i> 	Colorimetric assay for detection of carbapenem hydrolysis	Isolates that have reduced susceptibility to carbapenems Results that indicate presence or absence of some carbapenemases	3C, 3C-1
MRSA Agar	<ul style="list-style-type: none"> • <i>S. aureus</i> 	Agar dilution; MHA with 4% NaCl and 6 μ g/mL oxacillin	Detecting MRSA. See cefoxitin surrogate agent tests, which are preferred.	3E

“Nota del LNR”: De acuerdo a recomendaciones nacionales y regionales, algunas pruebas marcadas como “opcionales” en CLSI, son consideradas “Necesarias”. Por ej. Búsqueda de BLEE; Búsqueda de carbapenemasas.

Desde el LNR recomendamos incorporar los métodos colorimétricos de detección de carbapenemasas (BlueCarba y Carba NP-Direct) a la rutina del laboratorio de microbiología de manera de alertar al cuerpo médico sobre la presencia de este mecanismo de resistencia y tomar las medidas adecuadas respecto al tratamiento y al control de infecciones. Ver protocolo **Blue Carba Test** en: <http://antimicrobianos.com.ar/2015/10/protocolo-de-blue-carba/> y protocolo **Carba-NP-Direct** en: <http://antimicrobianos.com.ar/2015/12/carba-np-direct-lnr-anlis-2015/>

- Pruebas de **TAMIZAJE**: son pruebas que proveen resultados presuntivos y requieren pruebas adicionales para confirmar sensibilidad o resistencia

Screening Test	Organisms	Test Description	When to Perform Confirmatory Test?	Confirmatory Test	Table Location
Vancomycin agar screen	<ul style="list-style-type: none"> • <i>S. aureus</i> • <i>Enterococcus</i> 	Agar dilution; BHI with 6 µg/mL vancomycin	If screen positive	Vancomycin MIC	3F
HLAR by disk diffusion	<ul style="list-style-type: none"> • Enterococci 	Disk diffusion with gentamicin and streptomycin	If screen inconclusive	Broth microdilution, agar dilution MIC	3I

- Pruebas con **ANTIMICROBIANOS SUBROGANTES**: es un agente antimicrobiano que reemplaza al agente de interés cuando éste no puede ser utilizado, ya sea porque presenta errores de desempeño para la metodología empleada o porque el subrogante otorga mejores resultados.

Ejemplos:

Surrogate Agent	Organisms	Test Description	Results
Cefoxitin	<ul style="list-style-type: none"> • <i>S. aureus</i> • CoNS • Not for <i>S. pseudintermedius</i> 	Broth microdilution (<i>S. aureus</i> only) or disk diffusion	Predicts results for <i>mecA</i> -mediated oxacillin resistance
Cefazolin	<ul style="list-style-type: none"> • <i>E. coli</i> • <i>Klebsiella</i> spp. • <i>P. mirabilis</i> 	Broth microdilution or disk diffusion	Predicts results for the oral agents cefaclor, cefdinir, cefpodoxime, cefprozil, cefuroxime, cephalexin, and loracarbef when used for therapy of uncomplicated UTIs. Cefpodoxime, cefdinir, and cefuroxime may be tested individually because some isolates may be susceptible to these agents while testing resistant to cefazolin.

- Pruebas con **ANTIMICROBIANOS EQUIVALENTES**: es una droga que predice los resultados de otras drogas muy relacionadas de la misma clase, de esta manera se optimizan las pruebas de sensibilidad limitando el número de drogas a probar. La palabra “o” en las tablas 1 y 2 indican que la sensibilidad y resistencia cruzada en estas drogas es prácticamente completa y solo uno de ellos es suficiente para realizar la prueba de sensibilidad (Errores Muy Mayores + Errores Mayores <3%; Errores menores <10%).

Ejemplo de drogas equivalentes:

Agents	Organism	Identified by	Table Location
Cefotaxime o ceftriaxone	<i>Enterobacteriaceae</i>	“Or”	1A and 2A-1
Azithromycin or clarithromycin or erythromycin	<i>Staphylococcus</i> spp.	“Or”	1A and 2C

2.- Cefazolina para infección urinaria no complicada (IUNoC) (Enterobacterias - Tabla 2A-1)

Se esclarecieron los puntos de corte de cefazolina para ser informada en IUNoC, en infecciones distintas a la IUNoC, y como predictor de sensibilidad de las cefalosporinas orales en IUNoC.

	Difusión (mm)			CIM (µg/ml)			Comentarios
	S	I	R	S	I	R	
Cefazolina (30µg)	≥23	20-22	≤19	≤2	4	≥8	Cefazolina parenteral. Para tratamiento de infecciones distintas de IUNoC. Dosis: 2g/8hs (IM o IV).
Cefazolina (30µg)	≥15	-	≤14	≤16	-	≥32	Cefazolina parenteral. Para tratamiento de IUNoC. Dosis: 1g/12hs (IM o IV).
Cefazolina (30µg) (subrogante para cefalosporinas orales en IUNoC)	≥15	-	≤14	≤16	-	≥32	Para predecir el resultado de cefalosporinas orales en IUNoC: cefaclor, cefdinir, cefpodoxima, cefprozil, cefuroxima axetil, cefalexina, y loracarbef.

3.- Punto de corte de oxacilina para *Staphylococcus pseudointermedius* (*Staphylococcus* spp. - Tabla 2C)

Se incorporó la interpretación de las pruebas de sensibilidad de oxacilina para *Staphylococcus pseudointermedius*. A diferencia de lo que ocurre con *S. aureus* y SCN, el disco y/o la CIM de cefoxitina no son confiables para detectar meticilino resistencia mediada por *MecA*.

	Difusión (mm)			CIM (µg/ml)		
	S	I	R	S	I	R
oxacilina (1µg)	≥18	-	≤17	≤0.25	-	≥0.5

4.- Punto de corte epidemiológico (Epidemiological Cutoff Value – ECV) para Azitromicina vs *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei* (Tabla 2A-2)

El concepto de “Punto de corte” (PC) y de “Punto de corte epidemiológico” (ECV) son diferentes. Los PC se establecen utilizando las distribuciones de CIM, los datos farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD), y los datos de evolución clínica (como se describe en el documento M23 del CLSI). Teniendo en cuenta que los PC se basan en múltiples bases de datos farmacológicas y clínicas, se considera que son predictores robustos de los resultados clínicos. Por el contrario, los ECV son valores de CIM que separan las poblaciones bacterianas sin mecanismos de resistencia (salvajes) de aquellas que si lo poseen (no salvajes), basados en los fenotipos de CIMs. Por lo tanto, los ECV se basan en información *in vitro* únicamente. Los ECVs se utilizan principalmente para señalar la emergencia o la evolución de cepas no salvajes. Los ECVs NO son PC clínicos, y por lo tanto la relevancia clínica de éstos no ha sido identificada o aprobada por el CLSI u otra agencia regulatoria.

Este año se incorporó el ECV para la combinación: *Shigella flexneri*, *S. sonnei* vs azitromicina.

Azitromicina (15 µg) Difusión (mm)		Azitromicina CIM (µg/ml)		Especie
Salvaje	No salvaje	Salvaje	No salvaje	
≥16	≤15	≤8	≥16	Para <i>S. flexneri</i>
-	-	≤16	≥32	Para <i>S. sonnei</i>

5.- Sección especial en la Tabla 2A-1 para *Salmonella spp.* y Quinolonas

Los puntos de corte para *Salmonella spp.* vs Quinolonas se colocaron en una sección especial de la Tabla de Enterobacterias 2A-1. No hubo modificación en los valores de puntos de corte.

6.- Puntos de Corte para Drogas Nuevas:

a. Ceftolozane/Tazobactam

Microorganismo (Tabla)	Difusión (mm)			CIM (µg/ml)		
	S	I	R	S	I	R
Enterobacterias (2A-1)	-	-	-	≤2/4	4/4	≥8/4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2B-1)	≥21	17- 20	≤16	≤4/4	8/4	≥16/4
<i>Streptococcus</i> grupo viridans (2H-2)	-	-	-	≤8/4	16/4	≥32/4

b. Oritavancina

Microorganismo (Tabla)	Sensible (µg/ml)	comentario
<i>Staphylococcus</i> spp. (2C)	≤0.12	Sólo para <i>S. aureus</i>
<i>Enterococcus</i> spp. (2D)	≤0.12	Sólo para <i>E. faecalis</i> VAN-S
<i>Streptococcus</i> beta-hemolíticos (2G-1)	≤0.12	
<i>Streptococcus</i> grupo viridans (2H-2)	≤0.12	

c. Telavancina

Microorganismo (Tabla)	Difusión (mm)	CIM (µg/ml)	comentario
<i>Staphylococcus</i> spp. (2C)	≥15	≤0.12	Sólo para <i>S. aureus</i>
<i>Enterococcus</i> spp. (2D)	≥15	≤0.25	Sólo para <i>E. faecalis</i> VAN-S
<i>Streptococcus</i> beta-hemolíticos (2G-1)	≥15	≤0.12	
<i>Streptococcus</i> grupo viridans (2H-2)	≥15	≤0.06	

d. Tedizolid

Microorganismo (Tabla)	Difusión (mm)			CIM (µg/ml)		
	S	I	R	S	I	R
<i>S. aureus</i> (2C)	≥23	21- 22	≤20	≤0.5	1	≥2
<i>E. faecalis</i> (2D)	≥21	-	-	≤0.5	-	-
<i>Streptococcus</i> beta-hemolíticos (2G-1)	≥21	-	-	≤0.5	-	-
<i>Streptococcus</i> grupo viridans (2H-2)	≥21	-	-	≤0.25	-	-

7.- Documento M45 3ed.

Incorporación de nuevos microorganismos:

Aerococcus spp.

Lactococcus spp.

Micrococcus spp.

Gemella spp.

Rothia mucilaginosa