NOVEDADES 2020

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"

http://antimicrobianos.com.ar/2020/06/novedades-clsi-2020/

Se describe aquí un breve resumen de las novedades más relevantes publicadas en enero de **2020** en el documento **M100 30th Edition** del **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**: **"Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirtieth Informational Supplement"**. El documento **M100 30th** provee las tablas de interpretación actualizadas de las pruebas de sensibilidad correspondientes a los documentos **M2-13ed:** "Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard - Thirteenth Edition" y **M7-11ed:** "Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard – Eleventh Edition". **Los documentos M2-13ed y M7-11ed se actualizaron en 2018 y continúan vigentes en 2020**.

ESTE MATERIAL DE NINGUNA MANERA PRETENDE REEMPLAZAR LOS DOCUMENTOS NI TABLAS ORIGINALES PUBLICADOS EN M100-S 30th Edition.

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 este documento es de libre acceso en http://clsi.org/m100

En este documento se incluyeron "Novedades" relevantes en:

1. Nueva definición de categoría Intermedia con "^".
2. Ceftacidima/avibactam (CZA) y Enterobacterales.
3. Nuevos puntos de corte para Colistín y Polimixina-B.
4. Colistín: Tabla 3D: Métodos para determinar resistencia a colistín en Enterobacterales y *Pseudomonas aeruginosa* = Colistin Broth Disk Elution (CBDE) y Colistin Agar Test.
5. Cefiderocol: Nuevo punto de corte por difusión.
6. Reincorporación del punto de corte de Norfloxacina.
7. *Staphylococcus* spp: recomendaciones de tiempo de incubación para métodos de detección de meticilino-resistencia.
8. Daptomicina y *Enterococcus* spp.
9. Agar MH-F para *Streptococcus pneumoniae*.

NOVEDADES CLSI 2020

NOTA INICIAL: Los géneros anteriormente incluidos en la familia *Enterobacteriaceae* fueron reorganizados en un Orden, llamado Enterobacterales, que incluye siete familias: *Budviciaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae*, *Pectobacteriaceae* y *Yersiniaceae*. *En esta nueva edición, la Tabla 2A que anteriormente correspondía a Enterobacteriaceae, fue renombrada como* Enterobacterales.

1. Nueva definición de Categoría Intermedia (I)

CLSI define a la categoría Intermedia (I) como una categoría que incluye varios escenarios al mismo tiempo:

a) aislamientos con CIMes o diámetros de zona de inhibición que logran niveles generalmente alcanzables de droga en sangre y tejidos y / o cuyas tasas de respuesta pueden ser más bajas que para aislamientos sensibles.

b) eficacia clínica en sitios anatómicos donde las drogas concentran fisiológicamente.

c) zona buffer, que contempla la variabilidad inherente al método, y debería prevenir que factores técnicos pequeños y no controlables causen grandes discrepancias en la interpretación, especialmente para drogas con estrecho margen de fármaco-toxicidad.

En el año 2020, el CLSI incluye además un símbolo "^" (Caret) que acompaña al rango de la categoría Intermedia. Si se encuentra el símbolo "^"en la categoría intermedia, indicaría que esa droga tiene el potencial de concentrar en un sitio anatómico; en particular se refiere a la capacidad de concentrar en orina. Algunos agentes también

tienen el potencial de concentrar en otros sitios anatómicos como por ej. revestimiento epitelial. **El símbolo "^" (Caret) se encuentra sólo para algunas drogas, como los agentes β-lactámicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas de las Tablas de Enterobacterales (2A), y *Pseudomonas aeruginosa* (2B) y de fluoroquinolonas y *Enterococcus* spp. (2D).**

Ejemplo: **Tabla 2A Enterobacterales**

Enterobacterales CLSI 2020	**Difusión (mm)**			**CIM (µg/ml)**		
	S	I	R	S	I	R
Ampicilina	≥17	**14-16ˆ**	≤13	≤8	**16ˆ**	≥32
Cefuroxima (oral)	≥23	**15-22ˆ**	≤14	≤4	**8-16ˆ**	≥32
Amicacina	≥17	**15-16ˆ**	≤14	≤16	**32ˆ**	≥64
Cloranfenicol	≥18	13-17	≤12	≤8	16	≥32
Minociclina	≥16	13-15	≤12	≤4	8	≥16
Ciprofloxacina (excepto *Salmonella* spp.)	≥26	**22-25ˆ**	≤21	≤0.25	**0.5ˆ**	≥1

Nota del LNR:

En el informe de aislamientos clínicos de origen urinario, de obtenerse resultados en la **categoría Iˆ** se puede incorporar al informe una nota que indique que ese fármaco concentra en el sitio de infección por lo que podría haber éxito de tratamiento.

2. Ceftacidima/avibactam

En 2018 CLSI aprobó los puntos de corte de ceftacidima/avibactam (CZA) de CIM y discos (30/20µg) para Enterobacterales y *Pseudomonas aeruginosa*, basados en una dosificación de 2,5g (2g ceftacidima + 0,5g avibactam) cada 8hs administrados en 2hs de infusión.

Ceftacidima/Avibactam (CLSI 2018, 2019, 2020)	**Difusión (mm) (discos 30/20µg)**			**CIM (µg/ml)**		
	S	I	R	S	I	R
Enterobacterales y *Pseudomonas aeruginosa*	≥ 21	-	≤ 20	≤ 8/4	-	≥ 16/4

En 2019 se agregó una nota **para Enterobacterales únicamente** aclarando que "*el método de difusión con discos puede sobre-estimar resistencia en aquellos aislamientos con zonas de*

inhibición entre 18-20mm. En estos casos se debería confirmar la sensibilidad con un método de CIM".

En 2020, CLSI modificó el rango de confirmación de la sensibilidad por CIM de 18-20mm a 20-22mm, aclarando que con el método de difusión no solo puede haber falsa resistencia sino también falsa sensibilidad. De igual manera, en estos casos se debería confirmar con un método de CIM.

Nota del LNR: En 2018 CLSI y EUCAST aprobaron puntos de corte por difusión para ceftacidima/avibactam pero utilizando discos con distinta carga: CLSI 30/20µg y EUCAST 10/4µg:

- Puntos de corte CLSI 2018-2020: ver arriba.
- Puntos de corte EUCAST 2018-2020:

Ceftacidima/ Avibactam (EUCAST)	**Difusión (mm) (discos 10/4µg)**					**CIM (µg/ml)**		
	S	I	ATU EUCAST	ATU LNR	R	S	I	R
Enterobacterales	≥13	-	-	-	≤12	≤8/4	-	≥16/4
*Pseudomonas aeruginosa**	≥17	-	16-17 mm	15-16 mm	≤16	≤8/4	-	≥16/4

*ATU (área de incertidumbre técnica) 16-17mm para EUCAST, 15-16mm para LNR

Luego de estudios de correlación realizados en el LNR (Pasteran et al. P2779-ECCMID 2019) entre CIM y discos con ambas cargas (CLSI y EUCAST) para Enterobacterales y *P. aeruginosa*, se observó que:

Para **Enterobacterales**:

- Los discos CLSI 30/20µg son apropiados para predecir sensibilidad pero presentan una alta proporción de errores mayores, lo que se traduce en falsa resistencia.

Si se utilizan los discos con carga CLSI 30/20µg, se recomienda que se utilicen solamente para predecir sensibilidad en Enterobacterales (punto de corte ≥21mm). Halos ≤20mm no necesariamente correlacionan con CIMes resistentes y deberían confirmarse con una metodología de CIM. Con las nuevas recomendaciones de CLSI 2020, zonas de inhibición entre 20-22mm deberían confirmarse por CIM. Estas recomendaciones de CLSI 2020 no resolverían el problema de la falsa resistencia observado en Argentina, y además, obligaría a re-testear aprox 30% de los Enterobacterales, según la epidemiología local.

Por el contrario, los discos con carga EUCAST 10/4µg presentan una proporción muy baja de errores mayores.

Por esta razón, desde el LNR recomendamos para Enterobacterales el uso de los discos con carga EUCAST 10/4µg utilizando los puntos de corte de EUCAST (S≥13mm, R≤12mm).

Para ***Pseudomonas aeruginosa***:

Ambos discos/estándares tuvieron pobre desempeño con alta proporción de errores muy mayores (CLSI) y mayores (CLSI/EUCAST).

Los discos con carga CLSI 30/20µg no son recomendables para su uso con *P. aeruginosa*.

Por el contrario, los discos con carga EUCAST 10/4µg sí podrían utilizarse en *P. aeruginosa* definiendo un Área de Incertidumbre Técnica (ATU) de 15-16 mm validada para los mecanismos de circulación en el país. Con esta ATU, se puede predecir sensibilidad con halos ≥17mm y resistencia con halos ≤14mm. Las zonas de inhibición que resulten dentro del ATU definida por el LNR (15-16mm) deberán ser confirmados por un método de CIM.

Hasta el momento, los únicos métodos comerciales disponibles para evaluar sensibilidad a ceftacidima/avibactam por dilución son las tiras de gradiente y el sistema automatizado Phoenix. Ni el método de gradiente ni los paneles Phoenix pueden discriminar con exactitud los valores de CIM de 8 µg/ml (sensible, wild-type) de los de 16 µg/ml (resistente, primera mutación en KPC-2/3). Por ello, el LNR ha propuesto un ATU para los valores de CIM de ceftacidima/avibactam de 16µg/ml por Phoenix o método de tiras de gradiente. Si éstos métodos arrojan este valor de CIM, y la cepa NO ES PRODUCTORA de MBL, debe confirmarse el resultado de resistencia por otra metodología (preferentemente por difusión con disco de 10/4 µg). Esta recomendación aplica tanto a Enterobacterales (ETB) como a *P. aeruginosa* (PAE).

RESUMEN RECOMENDACIONES del LNR 2020 para Ceftacidima/avibactam

CZA	Disco (mm)					CIM (µg/ml)			
	Carga	S	I	ATU LNR	R	S	I	ATU LNR	R
ETB	10/4 µg (EUCAST)	≥ 13	-	-	≤ 12	≤ 8/4	-	16/4	≥ 16/4
PAE	10/4 µg (EUCAST)	≥ 17	-	15-16	≤ 16	≤ 8/4	-	16/4	≥ 16/4

3. Polipéptidos

En la siguiente Tabla se muestran los cambios para polipéptidos **CLSI 2019 vs CLSI 2020**:

	CIM µg/ml				
	Sensible	**Intermedio**	**Resistente**	**WT**	**No-WT**
Enterobacterales					
COL 2019	-	-	-	≤ 2	≥ 4
COL 2020	-	**≤ 2 ^***	**≥ 4**	-	-
POL 2019	-	-	-	-	-
POL 2020	-	**≤ 2**	**≥ 4**	-	-
P. aeruginosa					
COL 2019	≤ 2	-	≥ 4	-	-
COL 2020	-	**≤ 2**	**≥ 4**	-	-
POL 2019	≤ 2	4	≥ 8	-	-
POL 2020	-	**≤ 2**	**≥ 4**	-	-
Acinetobacter baumannii*					
COL 2019	≤ 2	-	≥ 4	-	-
COL 2020	-	**≤ 2**	**≥ 4**	-	-
POL 2019	≤ 2	-	≥ 4	-	-
POL 2020	-	**≤ 2**	**≥ 4**	-	-

S: sensible, I: Intermedio, R: Resistente, WT: wild-type o salvaje, No-WT: no wild-type o no salvaje.
* La categoría I^ aplica sólo para colistín y Enterobacterales.

**Los puntos de corte CLSI aplican únicamente para el complejo *A. baumannii*.

En el año 2017 CLSI había removido los puntos de corte clínicos de CIM de colistín y polimixina-B de la Tabla de Enterobacterales (Tabla 2A) y había instaurado un punto de corte epidemiológico para dividir a las poblaciones en salvajes (wild-type) o no salvajes (no wild-type). En el año 2020, **CLSI reincorporó el punto de corte clínico para Enterobacterales** (Tabla 2A). Asimismo incorporó el punto de corte para polimixina-B y modificó el de colistín en *Pseudomonas aeruginosa* (Tabla 2B) y *Acinetobacter baumannii* (Tabla 2C).

Como se puede observar en la Tabla, las categorías válidas según CLSI para interpretar las pruebas de sensibilidad para estas drogas son la categoría Intermedia y la Resistente, no definiéndose punto de corte de sensibilidad. Para explicar esta modificación CLSI incluyó este año la siguiente alerta: *"Los datos clínicos y de PK/PD demuestran que colistín y polimixina-B tienen limitada eficacia clínica, aún cuando se obtienen resultados de*

categoría intermedia. Se recomienda fuertemente el uso de drogas alternativas. Colistín y polimixina-B deben ser usados en combinación con uno o más agentes antimicrobianos activos. Se recomienda la consulta con un especialista en enfermedades infecciosas".

CLSI incorporó además en 2020, las siguientes notas:

- Colistín (metanosulfonato) debe administrarse con una dosis de carga y dosis máximas ajustadas por funcionalidad renal (ver Guía de consenso Internacional**)
- Polimixina-B debe administrarse con una dosis de carga y dosis máximas recomendadas. (ver Guía de consenso Internacional**).
- Cuando colistín o polimixina-B se administran por vía sistémica, es probable que ninguna sea efectiva para neumonía.
- La microdilución en caldo, la elución de discos y la placa de screening con colistín son métodos aceptados para evaluar la sensibilidad de colistín. Para polimixina-B el único método aceptado es la microdilución en caldo. La difusión con discos y las tiras de gradiente no deben ser utilizados (ver Tabla 3D).

** Tsuji BT, y col. International Consensus guidelines for the optimal use of the polymyxins: endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA), International Society for Anti-Infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). Pharmacotherapy, 2019; 39(1):10-39 (incluído en el attach).

A diferencia de CLSI, la normativa Europea **EUCAST mantiene el mismo punto de corte para colistín** que fuera incorporado a su norma en 2010: **≤ 2 µg/ml Sensible; ≥ 4 µg/ml Resistente**. Estos puntos de corte aplican para Enterobacterales, *Pseudomonas* spp y *Acinetobacter* spp. Para el caso de *Pseudomonas* spp. EUCAST definió como área de incertidumbre técnica (ATU) una CIM de 4µg/ml. EUCAST no dispone de puntos de corte para Polimixina B.

A continuación se resumen los puntos de corte **CLSI y EUCAST 2020** para Colistín y Polimixina B:

Puntos de corte 2020 CIM (µg/ml)	**CLSI Colistín y Polimixina B**			**EUCAST Colistín**		
	S	**I**	**R**	**S**	**I**	**R**
Enterobacterales	-	≤2^*	≥4	≤2	-	≥4
Pseudomonas aeruginosa	-	≤2	≥4	≤2	-	≥4
*Acinetobacter spp.***	-	≤2	≥4	≤2	-	≥4

* La categoría I^ CLSI aplica sólo para colistín y Enterobacterales.

**Los puntos de corte CLSI aplican únicamente para el complejo *A. baumannii*.

Nota del LNR:

El LNR adoptó los puntos de corte **EUCAST para Enterobacterales, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp**: **Sensible ≤ 2 µg/ml, Resistente ≥ 4 µg/ml** para categorizar la sensibilidad a polipéptidos.

4. Métodos para evaluar la sensibilidad a colistín en Enterobacterales y *Pseudomonas aeruginosa* (Tabla 3D)

En la edición 2020, CLSI incorpora la nueva Tabla 3D donde se describen dos métodos aceptados para evaluar sensibilidad a colistín en Enterobacterales y *P. aeruginosa:*

Colistin Broth Disk Elution (CBDE): Elución en caldo de discos de colistín.
Colistin Agar Test (CAT): Placa de agar con colistín.

La Tabla 3D se acompaña de los siguientes comentarios:

1) Las polimixinas (colistín y polimixina-B) son agentes antimicrobianos de último recurso para el tratamiento de infecciones por gérmenes multiresistentes. Los datos clínicos y de PK/PD demuestran que colistín y polimixina-B tienen limitada eficacia clínica. Se recomienda fuertemente el uso de drogas alternativas. Si no hubiera alternativas, el informe de la CIM a colistín puede ser de ayuda para la toma de decisión respecto al tratamiento.

2) La microdilución en caldo, la elución de discos y la dilución en agar son métodos aceptados para evaluar la sensibilidad a colistín. Por el contrario, para polimixina-B, el único método aceptado es la microdilución en caldo.
3) La difusión con discos y las tiras de gradiente no deben ser utilizadas, ya que presentan una alta proporción de errores.
4) Colistín y polimixina-B se consideran equivalentes, por lo tanto la CIM obtenida para colistín predice la CIM para polimixina-B y viceversa.
5) Hasta el momento CLSI no ha evaluado los métodos alternativos para polimixina-B, por lo tanto los procedimientos abajo descriptos no deben ser adaptados para polimixina-B.
6) Estos métodos fueron evaluados por el CLSI para *Acinetobacter* spp. pero arrojaron resultados inexactos.
7) Estos métodos se evaluaron con un número limitado de marcas de discos y/o medios de cultivo y se consideran provisorios hasta que se evalúen datos adicionales que demuestren ser adecuados según el documento M23.

Descripción de las nuevas metodologías propuestas por CLSI para evaluar la sensibilidad a colistín:

Método Colistin Broth Disk Elution (CBDE): Elución en caldo de discos de colistín y Colistin Agar Test (CAT): Placa de agar con colistín.

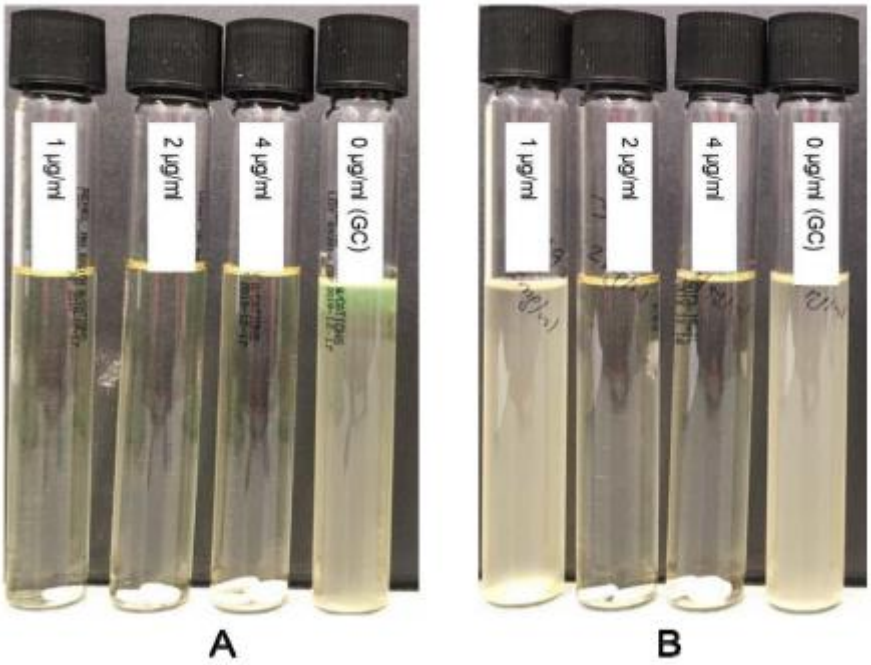
PRUEBA	ELUCION de DISCOS de COLISTIN (CBDE)	PLACA de AGAR con COLISTIN (CAT)
Microorganismos aprobados	Enterobacterales y *Pseudomonas aeruginosa*	Enterobacterales y *Pseudomonas aeruginosa*
Fortalezas	No son necesarios reactivos o medios especiales	Se pueden probar hasta 10 aislamientos al mismo tiempo
Limitaciones	Tiempo de trabajo y costo	Requiere un medio especial (placa de agar con colistín)
Cuando realizarlo?	prueba de aislamientos multiresistentes con fines clínicos o de control de infecciones	prueba de aislamientos multiresistentes con fines clínicos o de control de infecciones
Método	Dilución en tubos usando discos de colistín como fuente de colistín	Dilución en agar: variación del método descripto en M7 (diferente inóculo e interpretación de resultados)
Medio de cultivo	Caldo Mueller Hinton ajustado	Agar Mueller Hinton (20ml en

	con cationes (CAMHB) (Tubos de 10ml)	placas de Petri de 100mm)
Concentración de droga	Discos de colistín de 10µg. Concentración final: 0µg/ml (control crecimiento), 1µg/ml, 2µg/ml y 4µg/ml de colistín.	Concentración final: 0µg/ml (control crecimiento), 1µg/ml, 2µg/ml y 4µg/ml de colistín.
Inóculo	1. Utilizando un ansa o un hisopo tomar 3-5 colonias de un cultivo fresco (18-24hs) y transferirlo a un tubo con solución fisiológica (4-5ml). 2. Ajustar la turbidez a 0.5 de Mc Farland.	1. Utilizando un ansa o un hisopo tomar 3-5 colonias de un cultivo fresco (18-24hs) y transferirlo a un tubo con solución fisiológica (4-5ml). 2. Ajustar la turbidez a 0.5 de Mc Farland. 3. Diluir el inoculo estandarizado 1/10 en solución fisiológica.
Procedimiento	1. Dejar los tubos con caldo CAMHB (10ml) y los discos de colistín 10µg que se atemperen a la temperatura ambiente. 2. Rotular 4 tubos de CAMHB: 1, 2, 4 µg/ml y control, para cada aislamiento a probar. 3. Usando una técnica aséptica colocar 1 disco en el tubo "1µg/ml", 2 discos en el tubo "2µg/ml" y 4 discos en el tubo "4µg/ml". 4. Vortexear los tubos con los discos y dejar eluir al menos 30 min, pero no más de 60 min, a temperatura ambiente. 5. Preparar el inóculo. 6. Agregar 50µl de inóculo a los tubos Control, 1, 2 y 4µg/ml, para obtener una concentración final de $7.5x10^5$UFC/ml. 7. Como prueba de pureza, sub-cultivar del inóculo original, usando un ansa de 10µl en una placa de agar sangre o similar.	1. Dividir las placas con concentraciones crecientes de colistín hasta en 10 partes, de manera de probar 10 aislamientos por placa. Rotular cada parte con el número/nombre de cada aislamiento a probar. 2. Usando una micro-pipeta o un ansa de 10µl, estriar 10µl de la dilución 1/10 del inóculo en la parte correspondiente de cada una de las placas de colistín. 3. Como prueba de pureza, sub-cultivar del inóculo original, usando un ansa de 10µl en una placa de agar sangre o similar. 4. Incubar las placas de colistín y el control de pureza.

	8. Tapar bien los tubos y vortexear a baja velocidad cada tubo inoculado. (Se sugiere el vortex a baja velocidad para evitar que el colistín se pegue a la tapa o al vidrio por encima del menisco. 9. Desajustar levemente las tapas antes de incubar. 10. Incubar los tubos y el control de pureza.	
Incubación	33 a 35ºC; atmósfera ambiente; 16-20hs.	33 a 35ºC; atmósfera ambiente; 16-20hs.
Resultados	1. Examinar el control de pureza para asegurar que el inóculo estaba puro. 2. Examinar el crecimiento del tubo control, que debe presentar una turbidez evidente para validar la prueba. Nota: algunas *P. aeruginosa* pueden crecer solo cerca del menisco. 3. Leer la CIM como la menor concentración que inhibe completamente el crecimiento Para Enterobacterales y *P. aeruginosa:* ≤2 µg/ml = Intermedio ≥4 µg/ml = Resistente	1. Examinar el control de pureza para asegurar que el inóculo estaba puro. 2. Examinar el crecimiento de la placa control, que debe presentar crecimiento evidente para validar la prueba. 3. Examinar las placas de colistín cuidadosamente con luz transmitida para evidenciar colonias o patinas débiles. 4. Leer la CIM como la menor concentración de placa de colistín donde se inhibe completamente el crecimiento (ej. Aún 1 colonia debe ser considerada crecimiento) Para Enterobacterales y *P. aeruginosa:* ≤2 µg/ml = Intermedio ≥4 µg/ml = Resistente
Pruebas adicionales y reporte	Si hay un crecimiento inconsistente (ej. Crecimiento en 1 y 4µg/ml pero no en 2µg/ml) repetir la prueba. El crecimiento inconsistente puede ser el resultado de:	Si hay un crecimiento inconsistente (ej. Crecimiento en 1 y 4µg/ml pero no en 2µg/ml) repetir la prueba. El crecimiento inconsistente puede ser el resultado de:

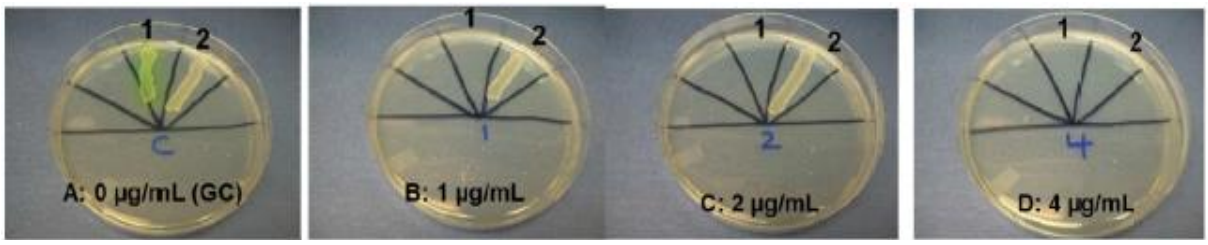
	- Contaminación de las diluciones mayores - Hetero-resistencia - concentración incorrecta de droga en los tubos - Error al inocular los tubos	- Contaminación de las diluciones mayores - Hetero-resistencia - concentración incorrecta de droga en las placas - Error al inocular las placas
Control de Calidad	*Escherichia coli* AR Bank #0349 *mcr-1* (≤1-4 µg/ml, con target de 2µg/ml) y *P. aeruginosa* ATCC 27853 (≤1-4 µg/ml)	*Escherichia coli* AR Bank #0349 *mcr-1* (≤1-4 µg/ml, con target de 2µg/ml) y *P. aeruginosa* ATCC 27853 (≤1-4 µg/ml)

Foto "Elución de discos de colistin - CBDE"



A: CIM ≤1 µg/ml B: CIM 2 µg/ml

Foto "Placas de Agar con Colistin - CAT"



Posición 1: CIM ≤1 µg/ml Posición 2: CIM 4 µg/ml

Nota del LNR:

Para categorizar la sensibilidad a colistín, el LNR adoptó los puntos de corte EUCAST para Enterobacterales, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.: **Sensible ≤ 2 µg/ml, Resistente ≥ 4 µg/ml**. En virtud de las dificultades que se presentan al momento de evaluar la sensibilidad a estas drogas, y como fuera mencionado en el documento "Desafíos en los métodos de evaluación de la sensibilidad a Polimixinas (colistín/polimixina B)" previamente enviado en el Boletín Informativo N°5-Septiembre 2017 del Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología (http://antimicrobianos.com.ar/2017/09/desafios-en-los-metodos-de-evaluacion-de-la-sensibilidad-a-polimixinas-colistinapolimixina-b/) el LNR ha probado y recomienda las siguientes metodologías como alternativas para aquellos laboratorios que no tengan la posibilidad de realizar algún método de referencia:

MÉTODOS PARA EVALUACIÓN DE SENSIBILIDAD A COLISTIN		
REFERENCIA (MR)	**ACEPTADOS (MA)**	**CUESTIONADOS (MC)**
. Microdilución en caldo (*) (**) **. Macrodilución en caldo** **. Dilución en agar** **. PCR MCR-1 (sólo para R transferible) (*)**	**. SENSITITRE** **. WALKAWAY MICROSCAN (***)** **. Predifusión con Tabletas COL(*)** **. COL-Agar Spot (*)** **. COLTEST (*)** **. CIM por elución discos COL(*)** **. Colistín Drop-test (*)**	**. Difusión con discos (DD)** **. Tiras de gradiente** **. VITEK2** **. PHOENIX** **Rapid Polymyxin NP test (****)**
CRITERIOS DE INFORME DE PRUEBAS FENOTIPICAS		
RESULTADO DE S **↓** **REPORTAR S (**)**	**RESULTADO DE S** **↓** **REPORTAR S**	**RESULTADO DE S (*****)** **↓** **CONFIRMAR CON OTRO MR O MA** **(NO aplica para DD)**
RESULTADO DE R **↓** **REPORTAR R**	**RESULTADO DE R** **↓** **REPORTAR R**	**RESULTADO DE R** **↓** **REPORTAR R** **(NO aplica para DD)**

(*) Se pueden descargar los Protocolos del LNR en los siguientes links:

Microdilución en caldo: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-CIM-microdiluci%C3%B3n-COL-version2-Agosto-2017.pdf

PCR MCR-1 (sólo para R transferible): http://antimicrobianos.com.ar/2016/01/deteccion-de-resistencia-transferible-a-colistin-gen-mcr-1/

Predifusión con Tabletas COL: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Predifusion-Tabletas-COL-Rosco-version2-Agosto2017.pdf

COL-Agar Spot y COLTEST®: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Agar-spot-COL-2017-version2-Agosto2017.pdf

Elución Discos COL: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Met-de-Eluci%C3%B3n-de-Discos-de-COL-version2-Agosto2017.pdf

Colistín Drop Test: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2019/06/Protocolo-COLISTIN-DROP-TEST.pdf

(**) *Tener presente que, aunque en muy baja frecuencia, se han detectado aislamientos de E. coli productores de mcr-1 con CIM=2 µg/ml a colistín por el método de microdilución en caldo. Ese fenotipo también se ha descripto en otras series, y recientemente se ha documentado que la presencia de mcr anula la bactericidia del colistín independientemente de la CIM que exprese el aislamiento (Overcoming mcr-1 mediated colistin resistance with colistin in combination with other antibiotics. Craig R. MacNair. et al. Nature Communications (2018) 9:458). Sugerimos confirmar los aislamientos de E. coli con CIM por microdilución de 2 µg/ml con otro método MR/MA y derivar al LNR para realización de PCR para mcr-like.*

(***) *Recientemente se han documentado errores muy mayores en la detección de resistencia a colistín en cepas de Enterobacterias hetero-resistentes por el método de referencia. Se recomienda el método turbidimétrico en lugar del "método prompt" para la preparación del inóculo ya que eso permitiría disminuir (pero no eliminar) los errores de falsa sensibilidad (Marlinghaus L et. Al, ECCMID 2018, O0958, Evaluation of colistin testing for Enterobacteriaceae with the WalkAway automated system)*

(****) *Simar S, J Clin Microbiol. 2017 Oct;55(10):3016-3020. doi: 10.1128/JCM.00934-17*

(*****) *El LNR recomienda: Cuando se requiera el uso de colistín como opción de tratamiento y se obtenga un resultado de sensibilidad por los métodos automatizados cuestionados, evaluar la sensibilidad a colistín por algún MR o MA.*

5. Cefiderocol

Cefiderocol es una nueva cefalosporina siderófora con actividad frente a enterobacterias y bacilos gram negativos no fermentadores como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. Como todos los β-lactámicos, su mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis de pared celular, sin embargo posee un modo particular de ingreso a la célula bacteriana a través de los canales de hierro, adicionalmente al uso de los canales de porinas, lo que redunda en una mayor estabilidad y actividad. Presenta actividad frente a bacterias multiresistentes como las productoras de carbapenemasas (serino y metalo-β-lactamasas). No tiene actividad frente a gérmenes gram positivos ni anaerobios.

En 2019, CLSI estableció puntos de corte de CIM para Cefiderocol y *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. y *Stenotrophomonas maltophilia*. En 2020, se establecieron los puntos de corte por difusión para discos de cefiderocol 30µg:

Cefiderocol CLSI 2020	**Difusión (mm)**			**CIM (µg/ml)**		
	S	**I**	**R**	**S**	**I**	**R**
Enterobacterales	≥16	12-15ˆ	≤11	≤4	8	≥16
Pseudomonas aeruginosa	≥18	13-17ˆ	≤12	≤4	8	≥16
Acinetobacter spp.	≥15	11-14	≤10	≤4	8	≥16
Stenotrophomonas maltophilia	≥17	13-16	≤12	≤4	8	≥16

Los puntos de corte están basados en una dosificación de 2g cada 8hs, administrado en 3 hs de infusión.

Las pruebas de sensibilidad por dilución de cefiderocol requieren Caldo Mueller Hinton ajustado con cationes, y depletado de hierro. Para esto se utiliza un agente quelante, que remueve hierro y también otros cationes (por ejemplo calcio, magnesio y zinc). A continuación de la quelación deben agregarse nuevamente los cationes divalentes para obtener concentraciones finales de 20-25mg/L de calcio, 10-12.5mg/L de magnesio, y 0.5-1mg/L de zinc. (Ver Apéndice I del documento M100, 30th ed. para detalles técnicos de la preparación de soluciones de caldo Mueller Hinton depletado en cationes, soluciones de cationes para suplementar y guía de lectura e interpretación de la CIM por microdilución).

En cambio para la difusión por discos, CLSI no tiene requerimientos especiales para el tipo o contenido de agar Mueller-Hinton a emplearse, más allá de los requisitos de calidad estándares para pruebas de sensibilidad.

Nota del LNR: la aprobación de cefiderocol por parte de FDA incluye una advertencia con respecto a la tasa de mortalidad por todas las causas que resulta más alta en pacientes tratados con cefiderocol respecto de aquellos con otros tratamientos antibióticos. La causa del aumento de la mortalidad no se ha establecido. Algunas de las muertes fueron el resultado del empeoramiento o las complicaciones de la infección, o las comorbilidades subyacentes. La mayor tasa de mortalidad por todas las causas se observó en pacientes tratados por neumonía adquirida en el hospital/asociada al ventilador, infecciones del torrente sanguíneo o sepsis. La seguridad y eficacia de cefiderocol no se ha establecido para el tratamiento de este tipo de infecciones. (https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-antibacterial-drug-treat-complicated-urinary-tract-infections-part-ongoing-efforts)

6. Norfloxacina

En el año 2019 CLSI había eliminado el punto de corte de norfloxacina para Enterobacterales (Tabla 2A), *P. aeruginosa* (Tabla 2B-1), otros bacilos negativos no fermentadores (Tabla 2B-5), *Staphylococcus* spp. (Tabla 2C) y *Enterococcus* spp. (Tabla 2D).

En la edición 2020, los puntos de corte fueron reincorporados, para **"probar e informar únicamente en aislamientos urinarios"**:

Norfloxacina (10µg) (solo para aislamientos de origen urinario)	**Difusión (mm)**			**CIM (µg/ml)**		
	S	**I**	**R**	**S**	**I**	**R**
Enterobacterales	≥17	13-16	≤12	≤4	8	≥16
P. aeruginosa	≥17	13-16	≤12	≤4	8	≥16
Otros BNNF	-	-	-	≤4	8	≥16
Staphylococcus spp.	≥17	13-16	≤12	≤4	8	≥16
Enterococcus spp.	≥17	13-16	≤12	≤4	8	≥16

7. *Staphylococcus* spp.

En la edición 2019 el CLSI incorporó una tabla resumen con los métodos disponibles para evaluar meticilino resistencia discriminado por especie. En la presente edición, se aclaran los tiempos de incubación necesarios para cada técnica:

	CIM FOX	Disco FOX	CIM OXA	Disco OXA
S. aureus	SI (16-20hs)	SI (16-18hs)	SI (24hs)	NO
S. lugdunensis	SI (16-20hs)	SI (16-18hs)	SI (24hs)	NO
S. epidermidis	NO	SI (16-18hs)	SI (24hs)	SI (16-18hs)
S. pseudintermedius	NO	NO	SI (24hs)	SI (16-18hs)
S. schleiferi	NO	NO	SI (24hs)	SI (16-18hs)
Otros *Staphylococcus* spp*	NO	SI (24hs)	SI (24hs)	NO

***Nota del LNR**: Para *Staphylococcus* spp. distintos de *S. aureus*, *S. lugdunensis*, *S. epidermidis*, *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi*, la CIM de oxacilina puede sobre-estimar resistencia en aislamientos con CIMs de 0.5-2µg/ml. Para estas especies es aconsejable utilizar el **disco de cefoxitina** como predictor de meticilino resistencia.

8. Cambios en los puntos de corte de Daptomicina para *Enterococcus* spp. (Tabla 2D)

En 2019 CLSI modificó el punto de corte de sensibilidad para daptomicina en *Enterococcus* spp., e incorporó el punto de corte de resistencia y la categoría SDD (sensibilidad dependiente de la dosis).

En la edición 2020, CLSI desdobló el punto de corte de daptomicina en función de la especie de enterococo:

Daptomicina CLSI 2020	Difusión (mm)				CIM (µg/ml)			
	S	SDD	I	R	S	SDD	I	R
E. faecium solamente	-	-	-	-	-	≤4	-	≥8
***Enterococcus* spp** distintos de *E. faecium*	-	-	-	-	≤2	4	-	≥8

"Daptomicina no debe reportarse para aislamientos recuperados del tracto respiratorio"
"El punto de corte de SDD en *E. faecium*, está basado en una dosis de 8-12mg/Kg administrado cada 24hs y está destinado al tratamiento de adultos con infecciones severas. Se recomienda la consulta con un especialista en enfermedades infecciosas".
"El punto de corte de sensibilidad de 2µg/ml para *Enterococcus* spp. distintos de *E. faecium* se estableció para una dosis de 6mg/Kg administrado cada 24hs".

9. *Streptococcus pneumoniae*: pruebas de sensibilidad utilizando MH-F (Tabla 2G)

CLSI incorporó un medio de cultivo alternativo para las pruebas de sensibilidad por difusión de *Streptococcus penumoniae*, el MH-F (Mueller Hinton Fastidious agar). El MH-F está compuesto por agar Mueller Hinton con 5% de sangre desfibrinada de caballo con el agregado de 20 µg/ml de NAD.
"Los resultados de la sensibilidad por difusión usando MH-sangre o MH-F fueron equivalentes utilizando las condiciones detalladas en la tabla 2G. Asimismo, los rangos de control de calidad para *S. pneumoniae* ATCC 49619 aplican para ambos medios de cultivo".