

CLSI - EUCAST: differenze analitiche ed interpretative per i batteri

CLSI - EUCAST: Analytic and interpretative differences among bacteria

Summary

Before using EUCAST breakpoints, we decide to compare CLSI 2010 ones actually used by our laboratories with the ones that will be our references starting from the next year, considering the most frequent relationships between bacteria and antimicrobial agents.

Grandesso S. CLSI - EUCAST: Analytic and interpretative differences among bacteria. *Trends Med* 2010; 10 (4):221-224.

©2010 Pharma Project Group srl. ISSN: 1594-2848

Key words:

**CLSI
EUCAST
bacteria
differences
interpretation**

Confrontando i breakpoints CLSI 2010, attualmente in uso nella quasi totalità dei laboratori italiani, con quelli dell'EUCAST, più aderenti alla realtà europea e quindi italiana, sono emerse notevoli differenze. La prima, macroscopica, è che EUCAST ha praticamente cancellato la definizione di "Intermedio" (almeno ufficialmente dato che in numerose situazioni si registra più di una diluizione di differenza tra la categoria "Sensibile" e quella "Resistente") che è ancora presente nei parametri statutari e, contemporaneamente, ha ri-definito le categorie interpretative di "Sensibile" e "Resistente", distinguendo inoltre anche i microrganismi "wild type" da quelli "non-wild type".

Tra le *Enterobacteriaceae*, emerge subito che per Eucast la resistenza ad ampicillina (ma anche per ampicillina/sulbactam e amoxicillina/clavulanato) è per valori $>8 \mu\text{g/ml}$, mentre per CLSI se la MIC è $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ il ceppo è sensibile, a $16 \mu\text{g/ml}$ è intermedio e se $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ si ha la resistenza, con il risultato che si ha

una diluizione di differenza tra EUCAST e CLSI. Per piperacillina e per piperacillina/tazobactam la resistenza è a valori $>16 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST, mentre per CLSI è per $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ (due diluizioni in meno, quindi, per gli standard europei). Ancora due diluizioni di differenza per ceftazidime (EUCAST definisce i ceppi resistenti a $>4 \mu\text{g/ml}$ e CLSI a $\geq 32 \mu\text{g/ml}$). Per i carbapenemi si abbassa da $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ a $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ la soglia di sensibilità. Qualche differenza anche per i chinoloni con la ciprofloxacina che è resistente a $>1 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST e $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI (una diluizione di differenza), mentre, per quanto concerne gli aminoglicosidi amikacina, gentamicina e tobramicina, gli enterobatteri sono resistenti a una diluizione in meno per EUCAST, mentre nel caso di netilmicina si arriva a due diluizioni di differenza; nel contempo EUCAST definisce i breakpoint di sensibilità sempre ad una diluizione in meno di CLSI.

Per *Pseudomonas* la differenza è macroscopica per piperacillina e piperacillina/tazobactam ver-

 **Stefano Grandesso**
S.S.D. Microbiologia - Laboratorio
Analisi - Ospedale dell'Angelo
Azienda ULSS 12 Veneziana
Via Paccagnella, 11
30174 Mestre (Venezia)
Tel. 041/9657555
Fax 041/9657557
E-mail: stefano.grandesso@ulss12.ve.it

so i quali i ceppi sono sensibili per EUCAST a valori $\leq 16 \mu\text{g/ml}$ e per CLSI a $\leq 64 \mu\text{g/ml}$, così pure la resistenza che è per valori $> 16 \mu\text{g/ml}$ per CLSI e $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ per CLSI (ancora due diluizioni di differenza). Una la diluizione di differenza anche per ceftazidime (resistenti per EUCAST i ceppi con valori $> 8 \mu\text{g/ml}$ e per CLSI a $\geq 32 \mu\text{g/ml}$). Minima la differenza tra i carbapenemi dove per meropenem la sensibilità passa da $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST. Tra gli aminoglicosidi solo netilmicina ha due diluizioni di differenza nella resistenza, mentre gli altri si fermano a una sola diluizione. I chinoloni hanno tutti una diluizione di differenza, più bassa ovviamente in EUCAST, come pure la colistina.

In *Acinetobacter spp.* c'è qualche differenza minima tra i carbapenemi (per imipenem e meropenem si ha la sensibilità a valori di $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST e $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI), mentre le differenze tra gli aminoglicosidi sono di una o due diluizioni. Una diluizione di differenza solo per i chinoloni con la ciprofloxacina verso cui si ha resistenza a valori $> 1 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST e a $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI, come pure la levofloxacina in cui la resistenza è per M.I.C. $> 2 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST e $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ per CLSI. Del tutto sovrapponibile è la colistina (resistenza per M.I.C. $> 2 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST e $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI). Passando ai Gram positivi, *Staphylococcus spp.* è forse quello che presenta le principali differenze tra EUCAST e CLSI. Completamente uguale la regola per penicillina (resistenza a $> 0.12 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST e ≥ 0.25 per CLSI) e per oxacillina (per *S. aureus* e *S. lugdunensis* resistenza a valori $> 2 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST e $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI, mentre per gli stafilococchi coa-

gulasi-negativi la resistenza si attesta a $> 0.25 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST e a ≥ 0.5 per CLSI). Differenze invece si hanno per quanto riguarda tutte le altre penicilline (comprese quelle associate agli inibitori delle β -lattamasi), le cefalosporine ed i carbapenemi: mentre CLSI dà i rispettivi breakpoint, EUCAST richiama uniformemente una nota che afferma che tutti i ceppi resistenti alla meticillina sono altresì resistenti a tutti i β -lattamici attualmente disponibili, compresi quelli in associazione con inibitori delle β -lattamasi. Tra i chinoloni, uniche differenze per ciprofloxacina e ofloxacina (resistenze a valori $> 1 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST e $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI), mentre levofloxacina e moxifloxacina non ne presentano. Le maggiori discrepanze si hanno a carico dei glicopeptidi: per la vancomicina viene considerata la resistenza a valori di M.I.C. $> 2 \mu\text{g/ml}$ da EUCAST, mentre CLSI dà resistenti i ceppi di *Staphylococcus aureus* con M.I.C. $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ (due diluizioni di differenza) e addirittura a $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ gli stafilococchi coagulasi-negativi (tre diluizioni in più); per teicoplanina viene proposta la resistenza per CLSI a valori $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ senza alcuna distinzione, mentre EUCAST considera *S. aureus* e *S. lugdunensis* resistenti a valori $> 2 \mu\text{g/ml}$ (tre diluizioni in meno) e gli stafilococchi coagulasi-negativi a $> 4 \mu\text{g/ml}$ (due diluizioni inferiore). Degna di rilevanza la nota presentata da EUCAST che sostiene che i ceppi di *Staphylococcus aureus* con valori di M.I.C. per la vancomicina di $2 \mu\text{g/ml}$ sono al limite della distribuzione delle M.I.C. dei ceppi "wild type" e questi possono portare a fallimenti terapeutici. Il breakpoint Intermedio/Resistente è stato ridotto a $2 \mu\text{g/ml}$ per evitare di refertare come isolati intermedi 'GISA' dal mo-

mento che infezioni gravi sostenute da ceppi 'GISA' non sono trattabili con dosi aumentate di vancomicina o di teicoplanina. Le M.I.C. dei glicopeptidi sono metodo-dipendenti e dovrebbero essere determinate con la microdiluizione in brodo (rif. ISO 20776). Tra i macrolidi si nota sempre una diluizione di differenza nella resistenza (da $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a $> 2 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST) per azitromicina, claritromicina ed eritromicina, mentre sostanziale la differenza per la clindamicina che passa da $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a > 0.5 per EUCAST (due diluizioni in meno). Per gli aminoglicosidi la resistenza ad amikacina passa da valori di $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a $> 16 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST, quella a gentamicina e tobramicina da $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ (CLSI) a $> 1 \mu\text{g/ml}$ (EUCAST, con tre diluizioni di differenza), mentre la netilmicina passa da $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ (CLSI) a $> 1 \mu\text{g/ml}$ (EUCAST, con addirittura quattro diluizioni in meno). Qualche differenza anche per rifamicina: i ceppi vengono considerati sensibili a valori di M.I.C. $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ per CLSI e $\leq 0.06 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST (tre diluizioni in meno) e la resistenza a valori di M.I.C. di $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI e $0.5 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST (due diluizioni in meno). Compagnoni in EUCAST anche i breakpoint di acido fusidico e di tigeciclina che non esistevano in CLSI.

Per *Enterococcus spp.* si abbassa di una diluizione la M.I.C. della sensibilità di ampicillina che passa da $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST, ove peraltro mancano i breakpoint per i chinoloni presenti in CLSI. Anche in questo caso EUCAST fa riferimento ad una molecola per estendere poi la stessa sensibilità o resistenza ad altre molecole della stessa famiglia affermando che la sensibilità ad am-

picillina, amoxicillina e piperacillina, da sole o associate al rispettivo inibitore di β -lattamasi, può essere desunta da quella dell'ampicillina. Diminuisce di due diluizioni il valore di M.I.C. corrispondente alla resistenza alla vancomicina (dai $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a $>4 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST) e di tre diluizioni quello di teicoplanina (da $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a >2 di EUCAST, dove peraltro cala anche la sensibilità da ≤ 8 di CLSI a ≤ 2 di EUCAST). In CLSI troviamo breakpoint per daptomicina e per eritromicina che non hanno corrispettivi in EUCAST, mentre accade esattamente il contrario per il cotrimossazolo e la tigeciclina. Compare una nota interessante nelle linee guida EUCAST che riporta la mancanza di effetto sinergico tra aminoglicosidi e β -lattamici contro gli enterococchi quando si ha resistenza ad alto livello agli aminoglicosidi, il che avviene con valori di M.I.C. alla gentamicina $>128 \mu\text{g/ml}$ oppure con aloni di inibizione $<8 \text{ mm}$ con un dischetto di gentamicina da $30 \mu\text{g}$. Per ciò che concerne *Streptococcus pneumoniae*, mentre per penicillina CLSI definisce due breakpoint per casi di meningite o di non meningite, EUCAST non fa questa differenza, portandosi a valori di M.I.C. per la sensibilità uguali a quelli di CLSI in caso di meningite ($\leq 0.06 \mu\text{g/ml}$), ma evidenziando resistenza a valori $>2 \mu\text{g/ml}$, mentre per la meningite CLSI dà la resistenza già a $\geq 0.12 \mu\text{g/ml}$ e per non-meningite si ha resistenza a $\geq 8 \mu\text{g/ml}$. Altra notevole differenza si ha per i carbapenemi: meropenem ha il breakpoint di sensibilità per CLSI con M.I.C. $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$, mentre EUCAST lo riporta a $\leq 2 \mu\text{g/ml}$, per ertapenem la resistenza passa da $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a >0.5 per EUCAST e per

imipenem la sensibilità viene data da CLSI a $\leq 0.12 \mu\text{g/ml}$ e da EUCAST a $\leq 2 \mu\text{g/ml}$. In EUCAST una esemplificativa tabella porta a determinare i valori di sensibilità per le varie patologie (polmonite o meningite) anche in rapporto alla dose e alla posologia di penicillina usata. Viene specificato anche che meropenem è l'unico carbapenemico che può venire impiegato nella terapia della meningite per la quale vengono anche riportati specifici (e differenti dalle altre patologie) breakpoint. Tra i chinoloni sono da notare una diluizione di differenza nella resistenza di levofloxacina (da $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a $>2 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST) e due per quella di moxifloxacina (da $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ a $>0.5 \mu\text{g/ml}$). Tra i macrolidi solo una minima differenza di una diluizione in meno di azitromicina (sensibilità per CLSI a $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$ e per EUCAST a $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$ e resistenza $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ per CLSI e $>0.5 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST). La resistenza a tetraciclina passa dai valori di $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a $>2 \mu\text{g/ml}$ di EUCAST, la sensibilità di vancomicina da $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ di EUCAST, la resistenza di cotrimossazolo da $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a >2 di EUCAST, la sensibilità e la resistenza di rifampicina da $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ e $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a $\leq 0.06 \mu\text{g/ml}$ e $>0.5 \mu\text{g/ml}$ di EUCAST, mentre la sensibilità di linezolid va da ≤ 2 di CLSI a ≤ 4 di EUCAST.

In *Haemophilus spp.* si nota subito la diminuzione della resistenza ad ampicillina che passa da $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a $>1 \mu\text{g/ml}$ di EUCAST e ancor più quella di amoxicillina/acido clavulanico che passa da $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a >1 di EUCAST. La M.I.C. di cefotaxime è considerata sensibile a valori $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ per CLSI e ≤ 0.12 per EUCAST. Diversa e

contraria la situazione tra i carbapenemi dove per meropenem si passa da $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$ per la sensibilità di CLSI a ≤ 2 di EUCAST, mentre per imipenem CLSI dà la sensibilità a valori di M.I.C. $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ ed EUCAST a $\leq 2 \text{ mcg/ml}$. Una diluizione sempre in meno nella sensibilità di EUCAST rispetto a CLSI per ciprofloxacina, levofloxacina e moxifloxacina. Tra i macrolidi si evidenziano le diminuzioni dei breakpoint per la sensibilità ad azitromicina (da $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a $\leq 0.12 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST) e per claritromicina (da $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST). La resistenza a tetraciclina va da $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a $>2 \mu\text{g/ml}$ per EUCAST, quella a cotrimossazolo da $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ per CLSI a >1 per EUCAST, quella a cloramfenicolo per valori di $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a quelli di $>2 \mu\text{g/ml}$ di EUCAST e per la rifampicina si va da $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a >0.5 di EUCAST.

Per quello che riguarda gli streptococchi β -emolitici abbiamo confrontato non le M.I.C., ma gli aloni di inibizione e abbiamo notato alcune differenze significative anche in questo caso. Ad esempio penicillina e ampicillina sono sensibili con aloni $\geq 24 \text{ mm}$ per CLSI e $\geq 18 \text{ mm}$ per EUCAST, mentre la eritromicina varia per quanto riguarda la resistenza che passa da $\leq 15 \text{ mm}$ per CLSI a $<18 \text{ mm}$ per EUCAST; clindamicina è sensibile con aloni di $\geq 19 \text{ mm}$ e resistente a $\leq 15 \text{ mm}$ per CLSI, mentre EUCAST la considera sensibile a $\geq 17 \text{ mm}$ e resistente a $<17 \text{ mm}$.

Poche ed insignificanti le differenze per quanto riguarda *Neisseria meningitidis*, mentre in *Neisseria gonorrhoeae* il ceftriaxone passa per la sensibilità da $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$ di CLSI a $\leq 0.12 \mu\text{g/ml}$ di EUCAST, la sensibilità a tetraciclina aumenta dai ≤ 0.25

µg/ml di CLSI a ≤0.5 µg/ml di EUCAST, ciprofloxacina passa per la sensibilità e la resistenza rispettivamente da ≤0.06 µg/ml e ≥1 µg/ml di CLSI a ≤0.03 µg/ml e >0.06 µg/ml di EUCAST, mentre spectinomicina va, per la sensibilità, dai ≤32 µg/ml di CLSI ai ≤64 di EUCAST.

Si segnala inoltre come CLSI abbia dato molto più risalto di EUCAST sugli aspetti 'educazionali' per microbiologi, soffermandosi, ad esempio, sulla scelta degli antibiotici da testare, le condizioni dei test di antibiotico-sensibilità (terreni, inoculo, incubazione, ceppi da utilizzare come controlli di qualità), test di conferma per le ESBL e le carbapenemasi nelle *Enterobacte-*

riaceae, i test di screening per la produzione di β-lattamasi, l'oxacillino-resistenza, quella mediata dal gene *mecA* usando il disco di cefoxitina, la vancomicina con M.I.C. ≥8 µg/ml, la resistenza inducibile a clindamicina, la resistenza ad alti livelli a mupirocina in *Staphylococcus aureus* e in stafilococchi coagulasi-negativi, i test di screening per l'alta resistenza ad aminoglicosidi e la vancomicina-resistenza in *Enterococcus spp.*

E' chiaro anche come dai breakpoint di EUCAST possano trarre maggior vantaggio gli utilizzatori di E-test in quanto in questo caso la determinazione della M.I.C. non va a raddoppio come nel caso della microdiluizione in

brodo, ma è più dettagliata e puntiforme.

Probabilmente tali variazioni comporteranno delle modifiche nella epidemiologia delle resistenze batteriche dei nostri ospedali (la cui grandezza sarà tutta da verificare), ma solo l'implementazione delle linee guida europee consentirà di adeguarsi ai dati del nostro continente, in aggiornamento frequente e senza costi per i nostri laboratori. Ci mancheranno indubbiamente gli aspetti 'educazionali' microbiologici, per i quali comunque non rinunceremo ad avere al nostro fianco nella pratica quotidiana anche i documenti CLSI dei prossimi anni. **TiM**

Bibliografia

1. **EUCAST:** www.eucast.org
2. **CLSI:** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility

Testing; Twentieth Informational Supplement. M100-S20. Vol. 30 No. 1. (Replaces M100-S19. Vol.

29 No. 3). January 2010. Clinical and Laboratory Standards Institute.