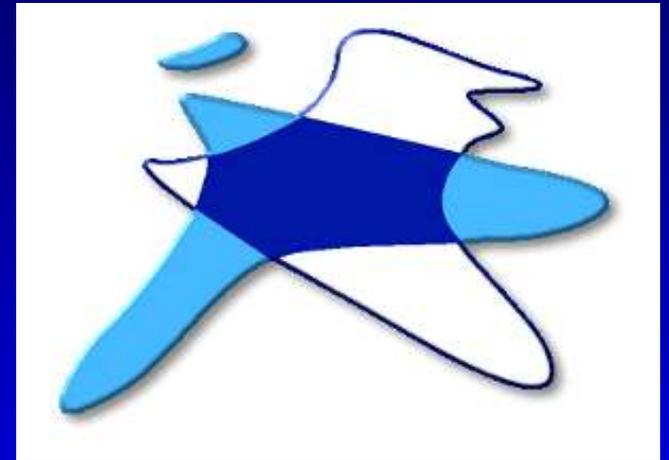


# ACTUALIZACIÓN EN SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA



**Buenaventura Buendía**  
**Servicio de Microbiología**

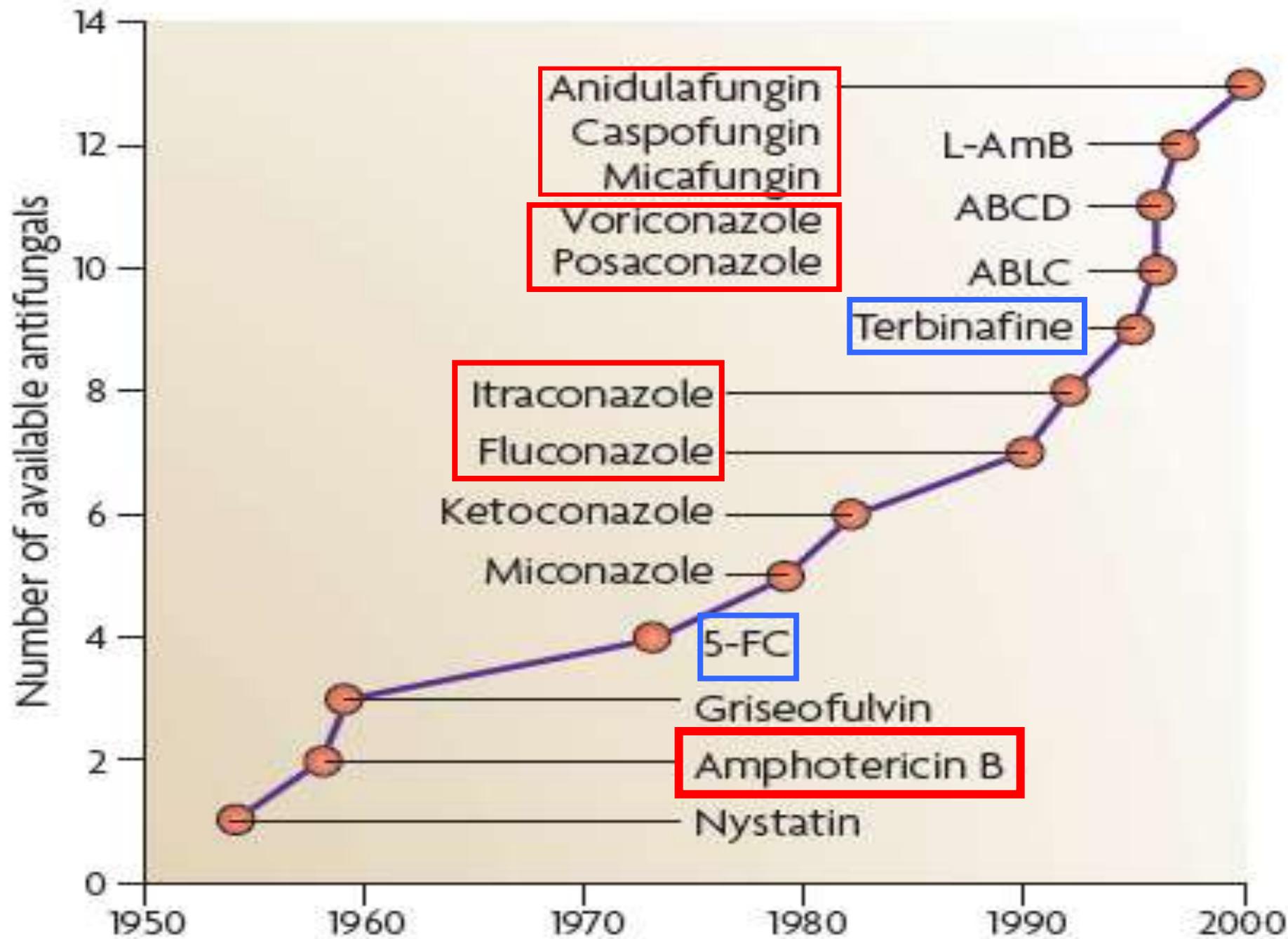
**H. U. de la Princesa**

**6 de marzo de 2014**

# **PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA**

---

- **Mayor incidencia de infecciones**
- **El espectro de patógenos fúngicos a su vez está creciendo**
- **El reconocimiento temprano de especies resistentes intrínsecamente a antifungicos garantiza un tratamiento óptimo**
- **Mayor utilización de antifúngicos**
- **Más fármacos disponibles**
- **Aparición de resistencias**



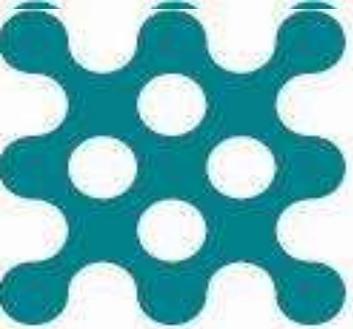
# MÉTODOS DE SENSIBILIDAD PARA LEVADURAS

---

-1982: subcomité de la NCCLS

- 1992: documento M27-P





EUCAST  
EUROPEAN COMMITTEE  
ON ANTIMICROBIAL  
SUSCEPTIBILITY TESTING

**European Society of Clinical  
Microbiology and Infectious  
Diseases (ESCMID)**

# MÉTODOS DE REFERENCIA

## LEVADURAS

### **CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute**

- M27-A3: microdilución

M27-S4: tablas

Diciembre-2012

- M44-A2: difusión

M44-S3: tablas

Agosto-2009

### ***EUCAST***

- E.DEF 7.2: 2012

Puntos de corte: V.6.1 (3-2013)

## HONGOS FILAMENTOSOS

### ***CLSI***

- M38-A2: microdilución

No hay puntos de corte

Abril-2009

- M51-A: difusión

M51-S1: tablas

Mayo-2010

### **European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing**

- E.DEF 9.1: 2008

Puntos de corte: V.6.1 (3-2013)

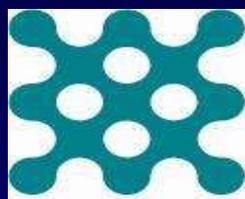
# Diferencias CLSI/EUCAST

Characteristic	CLSI M 27 – A3	EUCAST–E.DEF.7.1
Suitability	Yeast	Fermentative yeast
Inoculum	$0.5\text{--}2.5 \times 10^3 \text{ CFU ml}^{-1}$	$0.5\text{--}2.5 \times 10^5 \text{ CFU ml}^{-1}$
Inoculum standardisation	0.5x McFarland	0.5x McFarland
Test medium	RPMI 1640 0.2% glucose	RPMI 2% glucose
Buffer	MOPS	MOPS
Microtitration plates	U-shaped wells	Flat-bottom wells
Format	Microdilution	Microdilution
Temperature	35 °C	35–37 °C
Duration of incubation	24–48 h	24 h
Reading	Visually	Photometrically
Endpoint/inhibition	100% amphotericin B 50% azoles, candins	50% 5 FC, azoles, candins 90% amphotericin B

# **EFEECTO “TRAILING” (CRECIMIENTO RESIDUAL)**

---

- **Crecimiento reducido, pero persistente, a concentraciones por encima de la CMI**
- **Causa desconocida: depósitos, pH, T<sup>a</sup>**
- **Dificulta la lectura**
- **Se produce con fármacos fungistáticos**
- **Puede ser S a las 24 h y R a las 48**
- **Diferentes interpretaciones:**
  - \***No crecimiento o turbidez (ANB)**
  - \***Reducción prominente del crecimiento (azoles)**

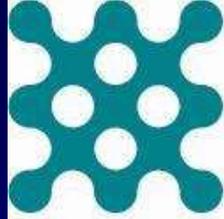


- **La industria no tiene voto en la toma de decisión sobre puntos de corte**
- **Los documentos y guías técnicas son de acceso libre y gratuito a través de su página web ([ww.eucast.org](http://www.eucast.org))**
- **La SEIMC, en sintonía con la ESCMID, ha venido trabajando en los últimos años en la implantación de los criterios de EUCAST en España**
- **Propuso la creación (2012) del denominado Comité Español del Antibiograma (COESANT)**
- **La implantación de los criterios EUCAST en España es insuficiente, en torno al 40% (CC-SEIMC)**

# COESANT: OBJETIVOS

---

- 1) **Implantación de la normativa de EUCAST**
- 2) **Implicación de las autoridades en el proceso de implantación de EUCAST**
- 3) **Revisión de los documentos científicos SEIMC ajustando su contenido a la normativa EUCAST**
- 4) **Desarrollo de un programa de educación en antibiograma**
- 5) **Revisión crítica de los documentos EUCAST**
- 6) **Propuestas sobre documentos para su presentación al Comité Ejecutivo de EUCAST**
- 7) **Traducción al español de los documentos más relevantes de EUCAST para su inclusión en su página web**



- Índice farmacodinámico:  $ABC/CMI=DOSIS/CMI$
- Es deseable que  $DOSIS/CMI \geq 100$
- Puntos de corte basados en estos principios:

	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>SDD</b>	<b>R</b>
<b>EUCAST</b>	$\leq 2$	4	-	$\geq 8$
<b>CLSI</b>	$\leq 8$	-	16-32	$\geq 64$

- *C. glabrata*: insuficientes evidencias para su uso (salvo ITU)
- *C. krusei*: intrínsecamente resistente

# MÉTODOS BASADOS EN LA DIFUSIÓN: DISCOS

- Método no cuantitativo
- **NCCLS: en 2004 → M44-A: sólo para especies de Candida**
- **CLSI: agosto 2009 → M44-A2**
  
- Medio Mueller-Hinton suplementado con:
  - \* 2% de glucosa: mejora el crecimiento
  - \* 0,5mcg/mL de azul de metileno: desaparece el trailing
  
- Preparación a partir de medio deshidratado
  - \*Azul: 0,1 g en 20mL de agua: añadir 100 mcl a un litro
  - \*Añadir 20 g de glucosa por litro
  - \*Autoclavar
  - \*Ph 7,2-7,4



# MÉTODOS BASADOS EN LA DIFUSIÓN: M44-A2

---

- Preparación con placas comerciales de MH:
  - \*Solución stock de glucosa: 40 g en 100 mL de agua
  - \*Añadir 200 mcl del stock anterior a los 100mL de G
  - \*Autoclavar
  - \*Dispensar 1,5 mL en cada placa de MH y extender
  - \*Dejar que se seque (4-24 h)
- Placas listas para su uso: MHAG-AM (IZASA)
- Inóculo: 0,5 de McFarland:  $1-5 \times 10^6$  ufc/mL
- Torunda → extender tres veces sobre la superficie

# MÉTODOS BASADOS EN LA DIFUSIÓN: M44-A2

- Incubación: 20-24 h a 35° (48 h si no hay crecimiento)
- Medir el halo en el punto en que se produce una reducción prominente del crecimiento (subjetivo)
- Ignorar: \*microcolonias en los bordes  
\*colonias aisladas en el interior del halo
- Interpretación: M44-S3

	DIAMETRO			CMI		
	R	S-DD	S	R	S-DD	S
<b>FLUCONAZOL</b> 25 µg	≤14	15-18	≥19	≥64	16-32	≤8
<b>VORICONAZOL</b> 1 µg	≤13	14-16	≥17	≥4	2	≤1
<b>CASPOFUNGINA</b> 5 µg	≤10 (NS)	-	≥11	>2 (NS)	-	≤2

# Interpretación: M44-S3



- **Lectura de los azoles:**

- Presencia de colonias en el interior del halo

Ignorar las microcolonias dentro del halo inhibición



# HONGOS FILAMENTOSOS: DISCOS DOCUMENTO M51-A (CLSI)

M51-A  
Vol. 30 No. 11  
Replaces M51-P  
Vol. 29 No. 15

Method for Antifungal Disk Diffusion  
Susceptibility Testing of Nondermatophyte  
Filamentous Fungi; Approved Guideline

**Proposed Guideline**  
June 2009

**Approved Guideline**  
May 2010

- **Medio: Muller-Hinton (sin suplementos)**
- **Pase a PDA: incubar a 35°, 2-7 días**
- **Añadir 1 ml de suero y una gota (10 mcl) de Tween 20**
- **Tubo estéril y dejar sedimentar 3-5´**
- **Extraer y mezclar el sobrenadante**
- **Ajustar la DO a 530 nm de 0,09-0,13 (*Aspergillus*): 0,5 MF**

# HONGOS FILAMENTOSOS: DISCOS

## DOCUMENTO M51-A

---

- Introducir una torunda
- Sembrar girando la placa tres veces
- Incubar a 35° de 24 a 72 h.
- Medir el diámetro desde el punto con un descenso prominente del crecimiento (80%)
- No hay puntos de corte clínicos, sí epidemiológicos

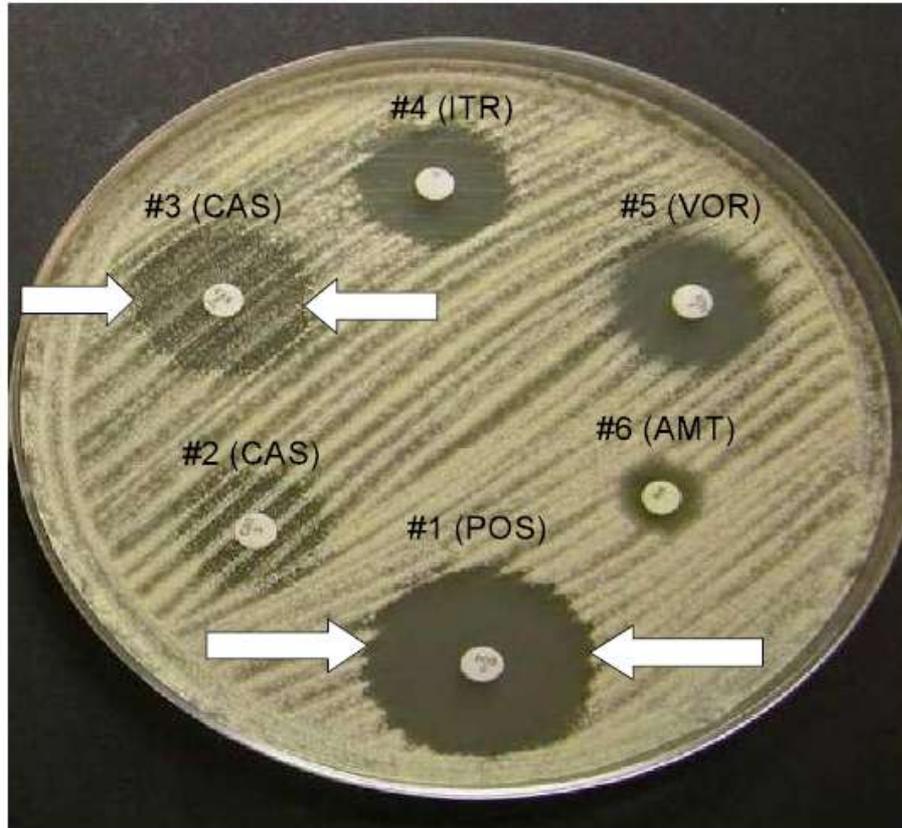
**(ECV)**

ECVs can be used as a measure of the emergence of strains with reduced susceptibility to a given agent.<sup>24</sup> They are not clinical breakpoints. Although organisms whose MICs/MECs/zone diameters fall outside the ECV show reduced susceptibility as compared to the wild-type population, and may exhibit one or more acquired resistance mechanisms, they may yet respond to clinical treatment because the MIC/MEC may lie below (zone diameter above) the true (and as yet undetermined) clinical breakpoint.<sup>25</sup>

The clinical relevance of testing this group of fungal pathogens remains uncertain because clinical breakpoints of proven relevance have not yet been identified or approved by CLSI or any regulatory agency.

# HONGOS FILAMENTOSOS: DISCOS DOCUMENTO M51-A

## A1. *Aspergillus terreus*



Shown is the performance of the disk diffusion method using nonsupplemented Mueller-Hinton agar for the determination of the antifungal susceptibility of *A. terreus* to posaconazole (#1-POS), caspofungin (#2 and 3-CAS; two manufacturers), itraconazole (#4-ITR), voriconazole (#5-VOR), and amphotericin B (#6-AMT). The lower arrows show a posaconazole clear zone of inhibition and the upper arrows show a zone with trailing growth usually only seen with caspofungin and other echinocandins. Trailing growth with caspofungin and other echinocandins should be ignored; however, trailing growth with other agents indicates resistance. Also see Section 7.5.

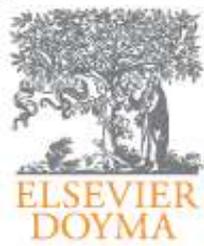
**Table 1. Zone Diameter Epidemiological Cutoff Values (ECV) and Corresponding Minimal Inhibitory Concentration (MIC) or Minimal Effective Concentration (MEC) for Filamentous Fungi<sup>1,a</sup>**

Antifungal Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole (mm)	Equivalent MIC or MEC <sup>b</sup> ECV (µg/mL)
		ECV	ECV
Amphotericin B	10 µg	15	1
Caspofungin	5 µg	17	1
Itraconazole	10 µg	17	1
Posaconazole	5 µg	17	1
Voriconazole	1 µg	17	1

<sup>a</sup> **ECV:** The value shown is the highest MIC/MEC (lowest zone diameter) of isolates belonging to the wild-type (WT) distribution. The ECV is expressed as WT < X mcg/mL (WT > X mm).

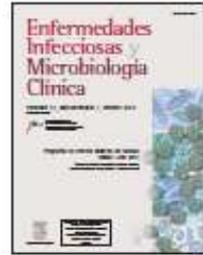
<sup>b</sup> MEC applies to caspofungin only.

**NOTE:** These criteria have not been approved for use in clinical testing but were proposed on an epidemiological basis during evaluation of a series of putative susceptible and resistant isolates.<sup>1</sup> As discussed in Section 8 of M51-P, the clinical relevance of testing this group of fungal pathogens remains uncertain, and breakpoints with proven clinical relevance have not yet been identified or approved by CLSI or any regulatory agency.



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Estudios de sensibilidad en levaduras. Actualización y novedades

Manuel Cuenca-Estrella\*, Ana Alastruey-Izquierdo, Alicia Gómez-López y Araceli Monzón

Servicio de Micología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, España

## - Membrana celular:

1. Polienos → Unión Ergosterol/Daño oxidativo

2. Azoles → Síntesis Ergosterol

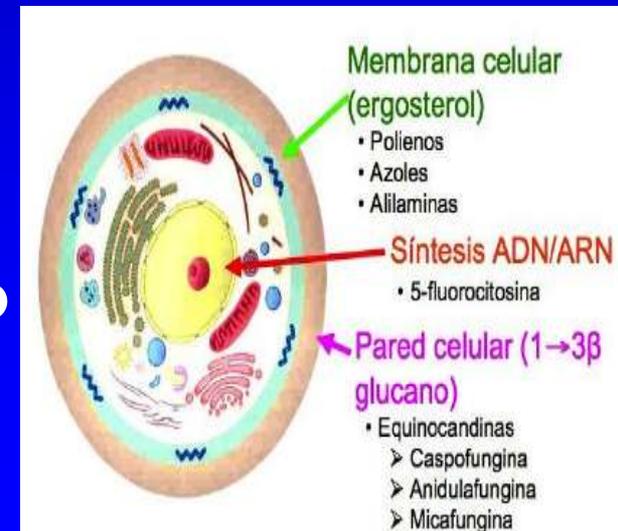
3. Alilaminas → Síntesis Ergosterol

## - Pared celular:

4. Equinocandinas → Síntesis Glucano

## - Ácidos nucleicos:

5-fluorocitosina



# PUNTOS DE CORTE

---

- Interpretación de la CMI mediante puntos de corte epidemiológico, farmacodinámico y clínico
1. Epidemiológico: separa la población que no posee mecanismos de resistencia adquiridos (población salvaje) del resto
  2. Farmacodinámico: se elige a través de los índices farmacodinámicos que predicen la eficacia *in vivo* (ABC/CMI, Cm/CMI o T/CMI)
  3. Clínico: se derivan de estudios clínicos prospectivos en humanos comparando la evolución con la CMI del patógeno → separa las cepas en dos grupos: aquellas con una alta o baja probabilidad de éxito terapéutico

# PUNTOS DE CORTE

---

- Tras la estandarización, el objetivo de ambos comités (EUCAST y CLSI) ha sido establecer puntos de corte
- Actualmente, los procedimientos del EUCAST y del CLSI para definir puntos de corte son similares basados en:
  - \*análisis poblacional de las CMI
  - \*aplicación de variables farmacocinéticas/dinámicas
- **Objetivo:** relacionar el antibiograma con la respuesta clínica a un determinado antifúngico
- Se han definido los puntos de corte epidemiológicos, valores que ayudan a separar la población normal sensible de la resistente
- Estos puntos de corte epidemiológicos pueden utilizarse para interpretar los resultados de los estudios de sensibilidad, en casos en los que no hay suficiente información para establecer puntos de corte clínicos

# PUNTOS DE CORTE

---

- Los primeros puntos de corte se describieron en 1997 (CLSI): para *Candida* spp
- Los puntos de corte disponibles hoy son específicos para cada especie
- Eran puntos de corte de fluconazol e itraconazol, basados en distribuciones de CMI así como en la respuesta clínica de pacientes con candidiasis orofaríngea
- En los últimos años se ha modificado el método para establecer puntos de corte (EUCAST y CLSI)

# PUNTOS DE CORTE

---

1. Se recopilan cientos de CMI de un determinado antifúngico, para cada una de las especies fúngicas
  2. Se hace un análisis poblacional y se establecen los valores de CMI de distribución central, la denominada *población salvaje*
  3. Se define un punto de corte epidemiológico (ECOFF, *epidemiological cut-off*), a partir del cual se encuentra una población con una CMI más elevada que la de la salvaje, que se considera resistente
- Algunos de los puntos de corte actuales están basados solo en los ECOFF y en datos farmacocinéticos, ya que no se dispone de datos clínicos suficientes para encontrar una correlación con los datos de sensibilidad in vitro

# PUNTOS DE CORTE

---

4. El procedimiento para establecer puntos de corte continúa con:
  - \* el análisis de las dosis más habituales utilizadas
  - \* el estudio de las variables farmacocinéticas y farmacodinámicas
  - \* el estudio de modelos experimentales de infección
5. Se define cuál es el parámetro más útil para predecir la respuesta (área bajo la curva/CMI, concentración máxima/CMI, T/CMI, etc.)
6. Análisis de probabilidad (simulación de Monte Carlo), para comprobar que los datos farmacodinámicos se ajustan a un modelo predecible
7. Por último se analizan los datos de infecciones fúngicas en pacientes de los que se dispone de datos clínicos y cepas identificadas a nivel de especie, y con estudio de sensibilidad

# PUNTOS DE CORTE

8. Si se encuentra correlación entre la respuesta clínica y la farmacodinámica, se establece un punto de corte clínico
9. Si no es así, se recomienda emplear el ECOFF para interpretar los resultados de los estudios de sensibilidad, hasta que se disponga de los estudios necesarios para establecer los puntos de corte clínicos

Descripción de los procedimientos del EUCAST y del CLSI para establecer puntos de corte de los antimicrobianos

Fases	EUCAST	CLSI
1	Identificar la dosis de antimicrobiano que se emplea en cada país europeo	Examinar los datos microbiológicos disponibles
2	Definir las <i>poblaciones salvajes</i> de cada especie microbiana y determinar los puntos de corte epidemiológicos	Conocer los mecanismos de resistencias y su relación con los valores de CMI y su correlación in vivo
3	Describir la farmacocinética del antimicrobiano	Examinar los parámetros farmacocinéticos del antimicrobiano
4	Examinar la farmacodinamia incluyendo la realización de simulaciones de Monte Carlo	Examinar los parámetros farmacodinámicos del antimicrobiano
5	Explorar la correlación entre los valores de CMI y la evolución clínica de los pacientes	Analizar la evolución clínica de los pacientes

CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute; CMI: concentración mínima inhibitoria; EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

# PUNTOS DE CORTE

---

- El **EUCAST** ha establecido puntos de corte de **ANB, anidulafungina, micafungina, fluconazol, voriconazol y posaconazol** para *Candida spp*
- El **CLSI** ha definido puntos de corte para **equinocandinas y los azoles (no posaconazol)**
- El **CLSI** ha modificado parte de los puntos de corte que había establecido en 1997
- Los puntos de corte de fluconazol coinciden con los establecidos por el EUCAST

Antifúngico	Especies	EUCAST			CLSI			
		Susceptible	Intermedio	Resistente	Susceptible	S-DD	Intermedio	Resistente
Itraconazol	<i>C. albicans</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
	<i>C. krusei</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
	<i>C. tropicalis</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
Fluconazol	<i>C. albicans</i>	≤ 2	4	> 4	≤ 2	4	-	≥ 8
	<i>C. glabrata</i>	IE	IE	IE	-	≤ 32	-	≥ 64
	<i>C. krusei</i>	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	> 4	≤ 2	4	-	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 2	4	> 4	≤ 2	4	-	≥ 8
Voriconazol	<i>C. albicans</i>	≤ 0,125	-	> 0,125	≤ 0,12	-	0,25-0,50	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
	<i>C. krusei</i>	IE	IE	IE	≤ 0,50	IE	1	≥ 2
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 0,125	-	> 0,125	≤ 0,12	-	0,25-0,50	≥ 1
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,125	-	> 0,125	≤ 0,12	-	0,25-0,50	≥ 1
Posaconazol	<i>C. albicans</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	SE	SE	SE	SE
	<i>C. glabrata</i>	IE	IE	IE	SE	SE	SE	SE
	<i>C. krusei</i>	IE	IE	IE	SE	SE	SE	SE
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	SE	SE	SE	SE
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	SE	SE	SE	SE
Anfotericina B	<i>C. albicans</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
	<i>C. glabrata</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
	<i>C. krusei</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
Caspofungina	<i>C. albicans</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	-	0,25	≥ 0,50
	<i>C. krusei</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	SE	SE	SE	≤ 2	-	4	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
Micafungina	<i>C. albicans</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	SE	SE	SE	≤ 0,06	-	0,12	≥ 0,25
	<i>C. krusei</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	SE	SE	SE	≤ 2	-	4	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
Anidulafungina	<i>C. albicans</i>	≤ 0,03	-	> 0,03	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	≤ 0,12	-	0,25	≥ 0,50
	<i>C. krusei</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	NR*	NR*	NR*	≤ 2	-	4	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1

Especie	Antifúngico	ECOR
<i>C. albicans</i>	Anidulafungina	0,12
	Caspofungina	0,12
	Micafungina	0,03
	Fluconazol	0,5
	Itraconazol	0,12
	Posaconazol	0,06
	Voriconazol	0,03
	Anfotericina B	2
	5 flucitosina	0,5
	<i>C. parapsilosis</i> complex	Anidulafungina
Caspofungina		1
Micafungina		4
Fluconazol		2
Itraconazol		0,5
Posaconazol		0,25
Voriconazol		0,12
Anfotericina B		2
5 flucitosina		0,5
<i>C. tropicalis</i>		Anidulafungina
	Caspofungina	0,12
	Micafungina	0,12
	Fluconazol	2/2
	Itraconazol	0,5
	Posaconazol	0,12
	Voriconazol	0,06
	Anfotericina B	2
	5 flucitosina	0,5
	<i>C. glabrata</i>	Anidulafungina
Caspofungina		0,12
Micafungina		0,03
Fluconazol		32
Itraconazol		2
Posaconazol		2/4
Voriconazol		0,5/1
Anfotericina B		2
5 flucitosina		0,5
<i>C. krusei</i>		Anidulafungina
	Caspofungina	0,25
	Micafungina	0,12
	Fluconazol	64
	Itraconazol	1
	Posaconazol	0,5/1
	Voriconazol	0,5/1
	Anfotericina B	2
	5 flucitosina	32

CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute; EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; IE: sin evidencias para establecer un punto de corte; NR: no se recomienda realizar estudio de sensibilidad pues la especie parece ser resistente in vitro; SE: los puntos de corte se encuentran en proceso de definición; S-DD: susceptible dependiente de la dosis.  
 \*En el caso de las equinocandinas y *Candida parapsilosis*, la recomendación se encuentra en discusión.

Puntos de corte clínicos aprobados por el EUCAST y el CLSI para interpretar datos de sensibilidad con *Candida* (datos en mg/l)

Antifúngico	Especies	EUCAST			CLSI			
		Susceptible	Intermedio	Resistente	Susceptible	S-DD	Intermedio	Resistente
Itraconazol	<i>C. albicans</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
	<i>C. krusei</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
	<i>C. tropicalis</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	0,25-0,50	-	≥ 1
Fluconazol	<i>C. albicans</i>	≤ 2	4	> 4	≤ 2	4	-	≥ 8
	<i>C. glabrata</i>	IE	IE	IE	-	≤ 32	-	≥ 64
	<i>C. krusei</i>	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	> 4	≤ 2	4	-	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 2	4	> 4	≤ 2	4	-	≥ 8
Voriconazol	<i>C. albicans</i>	≤ 0,125	-	> 0,125	≤ 0,12	-	0,25-0,50	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
	<i>C. krusei</i>	IE	IE	IE	≤ 0,50	IE	1	≥ 2
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 0,125	-	> 0,125	≤ 0,12	-	0,25-0,50	≥ 1
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,125	-	> 0,125	≤ 0,12	-	0,25-0,50	≥ 1
Posaconazol	<i>C. albicans</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	SE	SE	SE	SE
	<i>C. glabrata</i>	IE	IE	IE	SE	SE	SE	SE
	<i>C. krusei</i>	IE	IE	IE	SE	SE	SE	SE
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	SE	SE	SE	SE
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	SE	SE	SE	SE

**IE:** sin evidencias para establecer un punto de corte

**NR:** no se recomienda realizar estudio de sensibilidad pues la especie parece ser resistente in vitro

**SE:** puntos de corte en proceso de definición

## EUCAST

## CLSI

Anfotericina B	<i>C. albicans</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
	<i>C. glabrata</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
	<i>C. krusei</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 1	-	> 1	SE	SE	SE	SE
Caspofungina	<i>C. albicans</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	SE	SE	SE	≤ 0,12	-	0,25	≥ 0,50
	<i>C. krusei</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	SE	SE	SE	≤ 2	-	4	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
Micafungina	<i>C. albicans</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	SE	SE	SE	≤ 0,06	-	0,12	≥ 0,25
	<i>C. krusei</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	SE	SE	SE	≤ 2	-	4	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	SE	SE	SE	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
Anidulafungina	<i>C. albicans</i>	≤ 0,03	-	> 0,03	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. glabrata</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	≤ 0,12	-	0,25	≥ 0,50
	<i>C. krusei</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1
	<i>C. parapsilosis</i>	NR*	NR*	NR*	≤ 2	-	4	≥ 8
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,06	-	> 0,06	≤ 0,25	-	0,5	≥ 1

**IE:** sin evidencias para establecer un punto de corte

**NR:** no se recomienda realizar estudio de sensibilidad pues la especie parece ser resistente in vitro

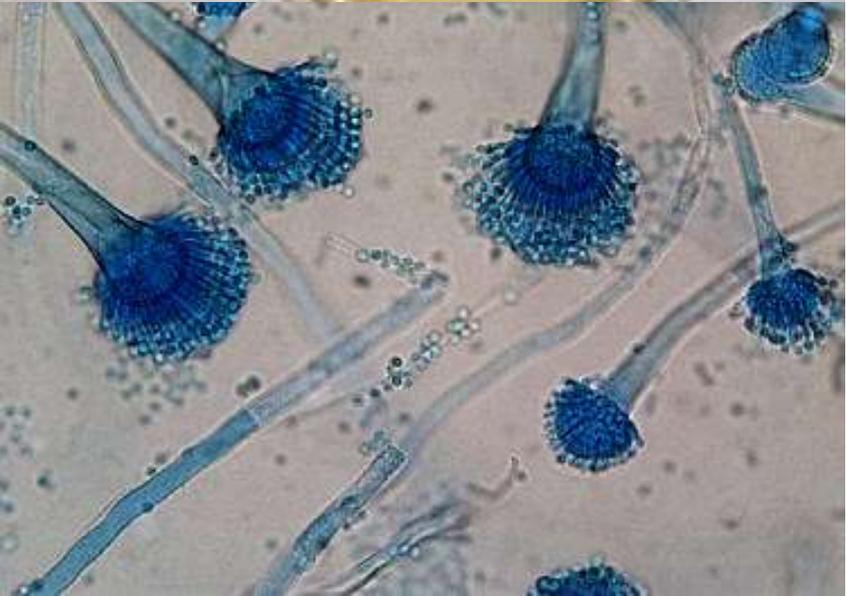
**SE:** puntos de corte en proceso de definición

**\*Equinocandinas/*Candida parapsilosis*:** recomendaciones en discusión

# EUCAST 2014

Antifungal agent	MIC breakpoint (mg/L)													
	<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. parapsilosis</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. guilliermondii</i>		Non-species related breakpoints <sup>1</sup>	
	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >
Amphotericin B	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	IE	IE	IE	IE
Anidulafungin	0.03	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	0.002	4	0.06	0.06	IE <sup>2</sup>	IE <sup>2</sup>	IE	IE
Caspofungin	Note <sup>3</sup>	Note <sup>3</sup>	Note <sup>3</sup>	Note <sup>3</sup>	Note <sup>3</sup>	Note <sup>3</sup>	-	-	Note <sup>3</sup>	Note <sup>3</sup>	IE <sup>2</sup>	IE <sup>2</sup>	IE	IE
Fluconazole	2	4	0.002	32	-	-	2	4	2	4	IE <sup>2</sup>	IE <sup>2</sup>	2	4
Itraconazole	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP
Micafungin	0.016	0.016	0.03	0.03	IE <sup>4</sup>	IE <sup>4</sup>	0.002	2	IE <sup>4</sup>	IE <sup>4</sup>	IE <sup>4</sup>	IE <sup>4</sup>	IE	IE
Posaconazole	0.06	0.06	IE <sup>2</sup>	IE <sup>2</sup>	IE <sup>2</sup>	IE <sup>2</sup>	0.06	0.06	0.06	0.06	IE <sup>2</sup>	IE <sup>2</sup>	IE	IE
Voriconazole	0.12 <sup>5</sup>	0.12 <sup>5</sup>	IE	IE	IE	IE	0.12 <sup>5</sup>	0.12 <sup>5</sup>	0.12 <sup>5</sup>	0.12 <sup>5</sup>	IE <sup>2</sup>	IE <sup>2</sup>	IE	IE

# Aspergillus



Especie	Antifungico	Puntos de corte epidemiológicos (ECOFF)		Puntos de corte clínicos (EUCAST)*	
		CLSI	EUCAST	S	R
<i>A. flavus</i>	Anfotericina B	2	4		
	Caspofungina	0,25			
	Posaconazol	0,25	0,5		
	Voriconazol	1			
	Itraconazol	1	1	≤1	>2
<i>A. fumigatus</i>	Anfotericina B	2	1	≤1	>2
	Caspofungina	0,5			
	Posaconazol	0,5	0,25	≤0,12	>0,25
	Voriconazol	1			
	Itraconazol	1	1	≤1	>2
<i>A. nidulans</i>	Anfotericina B	4			
	Caspofungina	0,5			
	Posaconazol	1	0,5		
	Voriconazol	2			
	Itraconazol	1	1	≤1	>2
<i>A. niger</i>	Anfotericina B	2	1	≤1	>2
	Caspofungina	0,25			
	Posaconazol	0,5	0,5		
	Voriconazol	2			
	Itraconazol	1	4		
<i>A. terreus</i>	Anfotericina B	4	4		
	Caspofungina	0,25			
	Posaconazol	0,5	0,25	≤0,12	>0,25
	Voriconazol	1			
	Itraconazol	1	1	≤1	>2
<i>A. versicolor</i>	Anfotericina B	2			
	Caspofungina	0,25			
	Posaconazol	1			
	Voriconazol	2			
	Itraconazol	2			

\*www.eucast.org (Versión: V 4,1. Datos validos desde 5/3/2012)

# MÉTODOS COMERCIALES

---

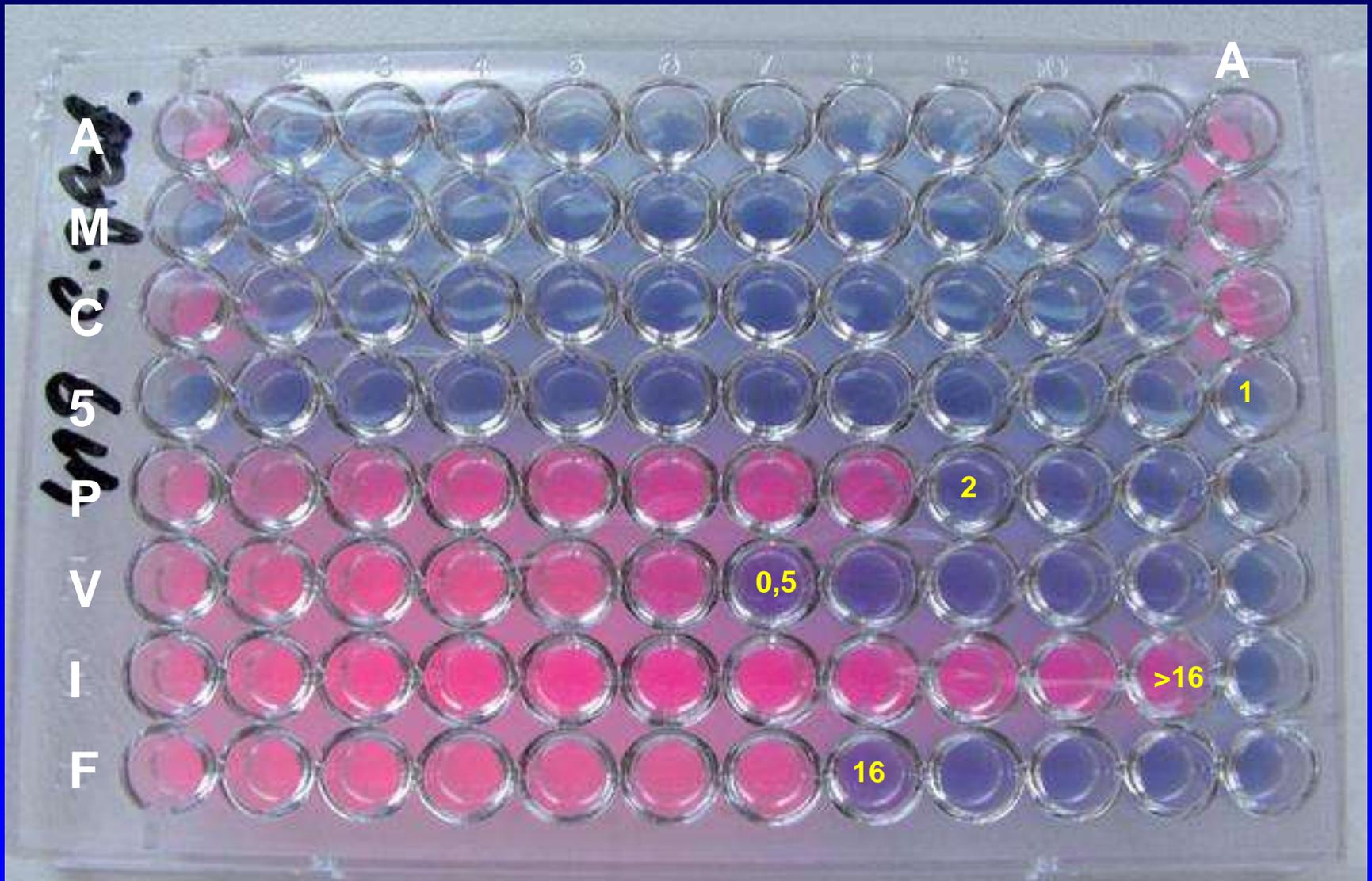
- Las técnicas comerciales sensibilidad se han implantado en los laboratorios clínicos

## 1. Microdilución: Sensititre (basado en el M-27A)

- Indicador de oxido-reducción (azul Alamar)
- La lectura visual es más fácil y objetiva:
  - \* Pocillos con crecimiento: color rosa
  - \* Pocillos sin crecimiento: color azul
- CMI: concentración más baja de color azul
- Azoles (efecto trailing): paso de rosa a púrpura (inhibición parcial del crecimiento)
- Buena correlación: mayor del 90%

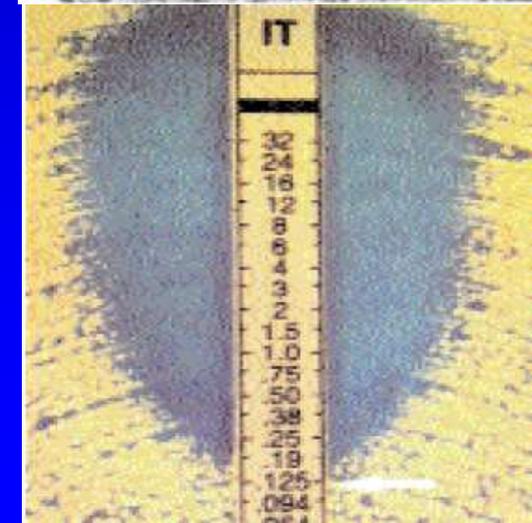
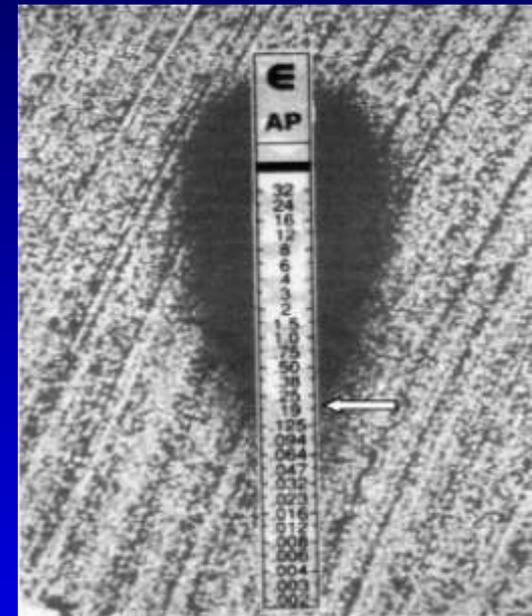
## 2. Difusión: E-test

# SENSITITRE

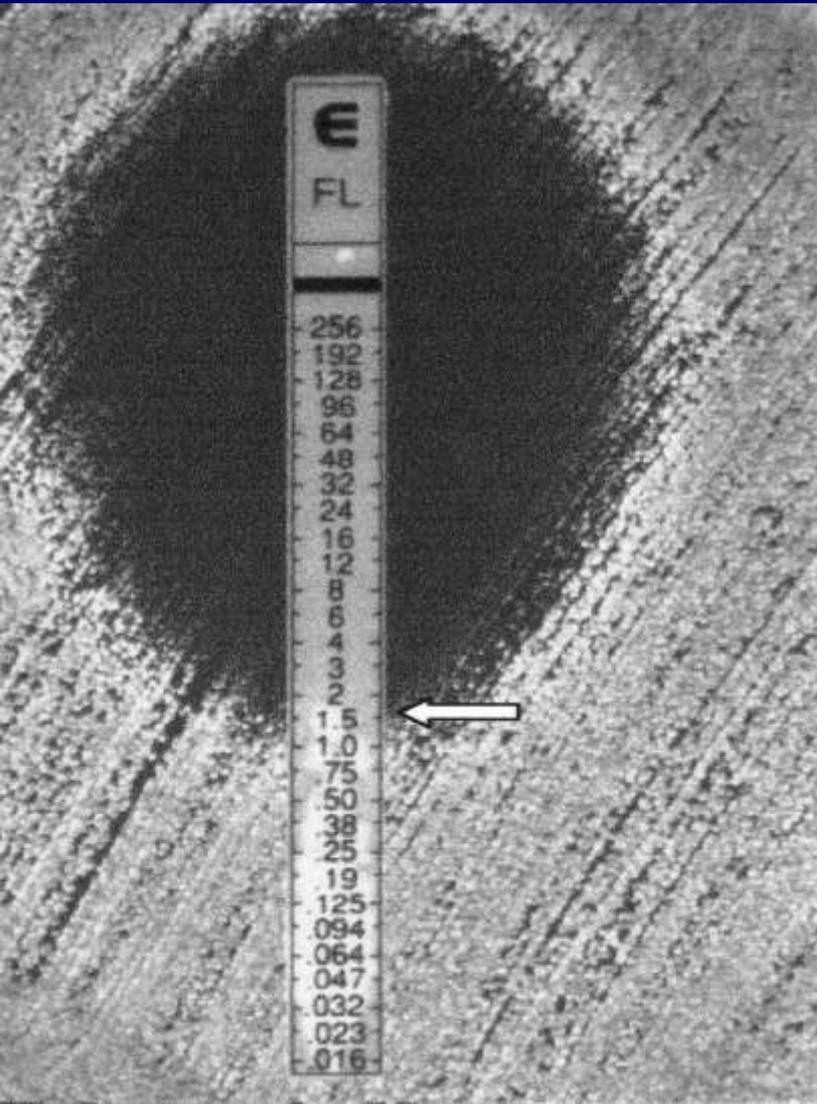


# MÉTODOS BASADOS EN LA DIFUSIÓN: E-TEST

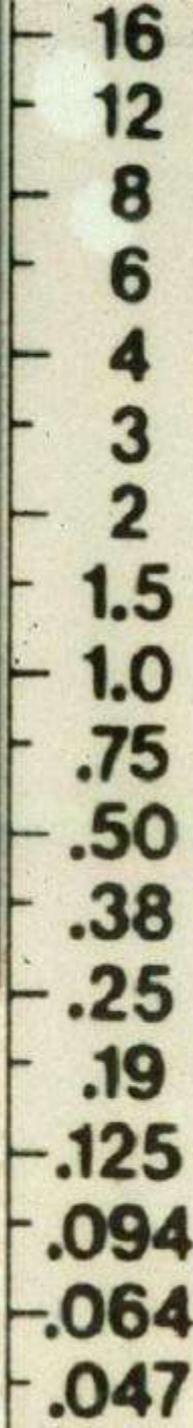
- Método cuantitativo de difusión
- Correlación >90% con el M-27A
- Medio: RPMI con 2% de glucosa
- Inóculo: 0,5 de McFarland
- Sembrar en tres direcciones
- Lectura a las 24 horas
- Puede ser el más útil para la ANB
- Estudios de sinergia



# MÉTODOS BASADOS EN LA DIFUSIÓN: E-TEST

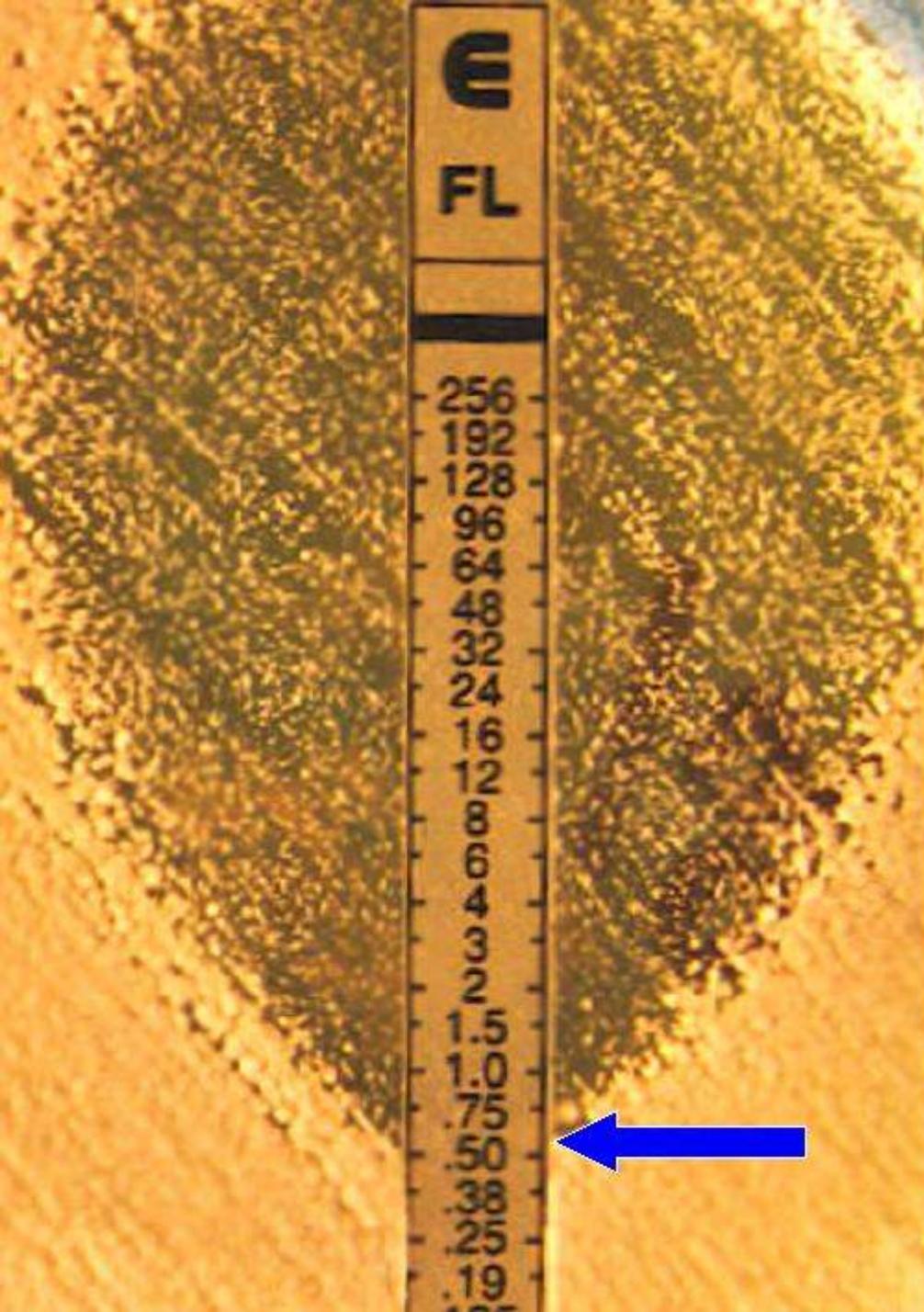


**If uneven  
intersection,  
read upper  
value if  
within 1  
dilution**



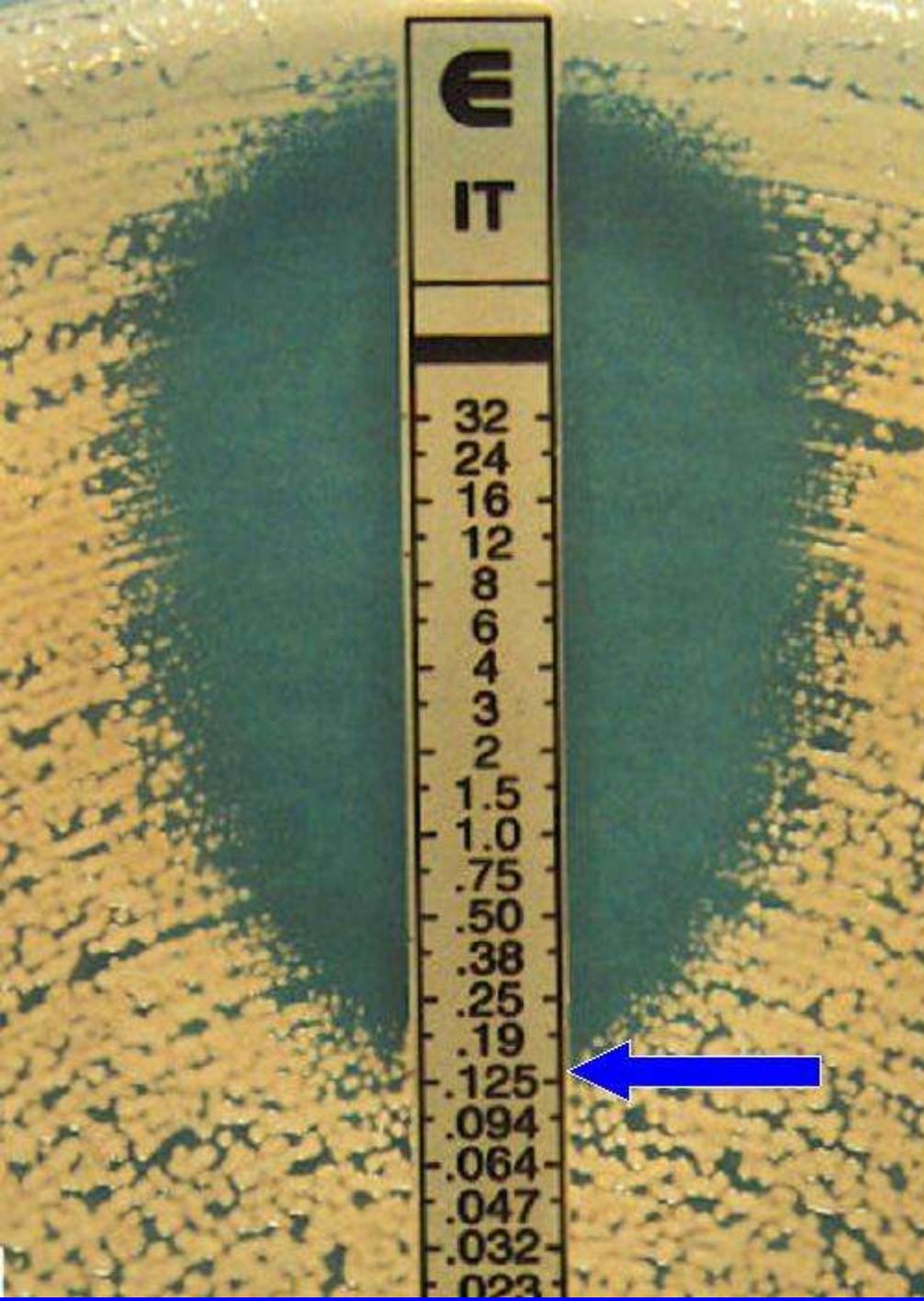


Complete growth  
along the strip,  
report MIC as  
> highest value on  
the strip

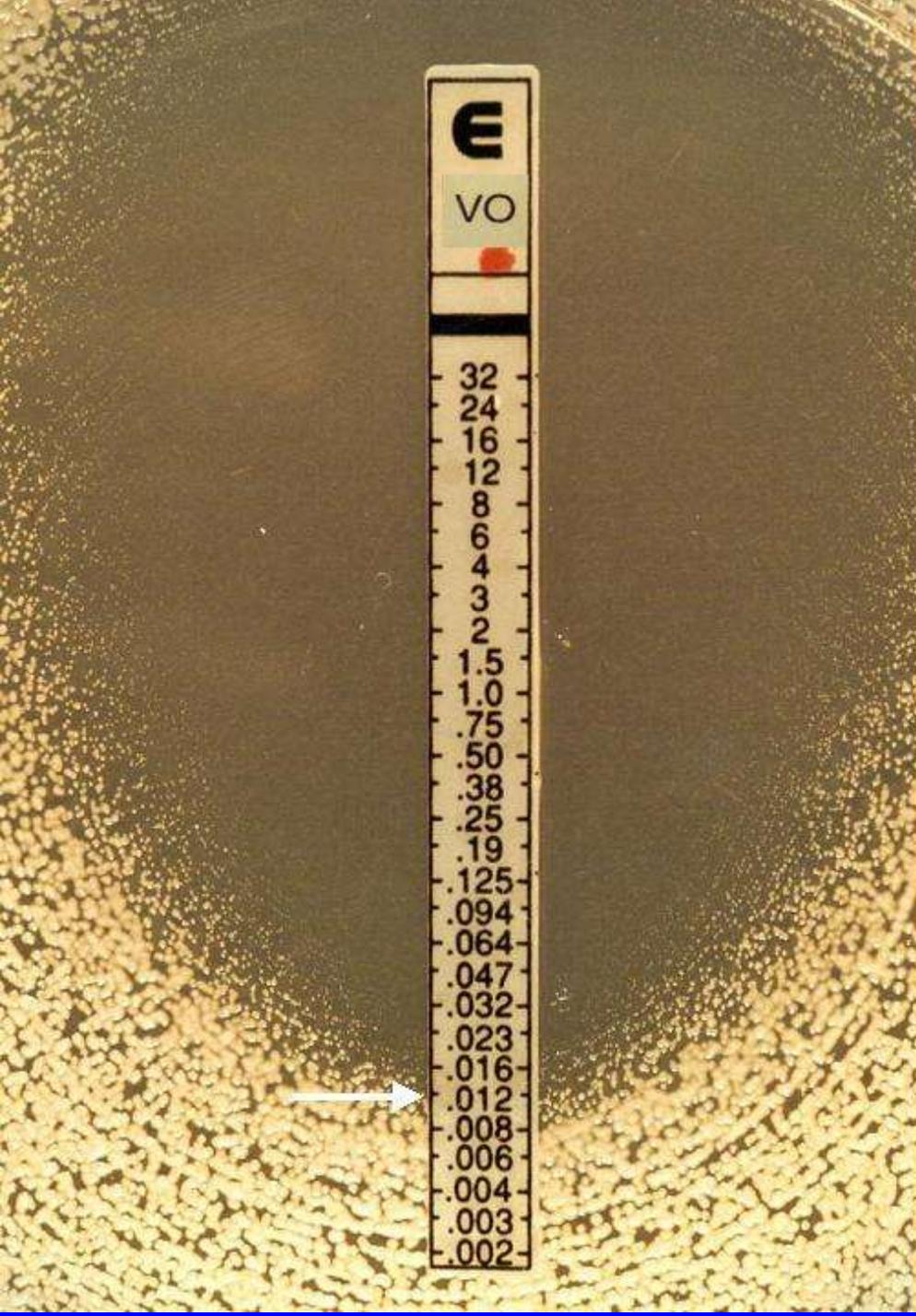


**Fluconazole**  
Read at the first point of significant inhibition, ignore the lawn of microcolonies





**Itraconazole**  
**Clear cut end point**

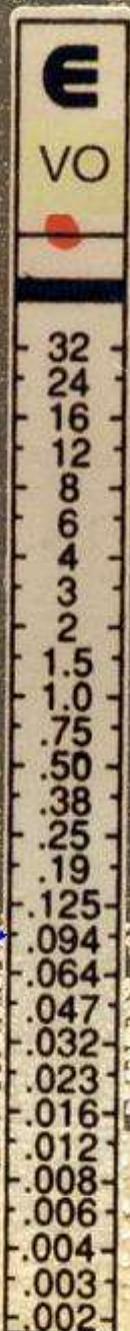


***C. albicans***

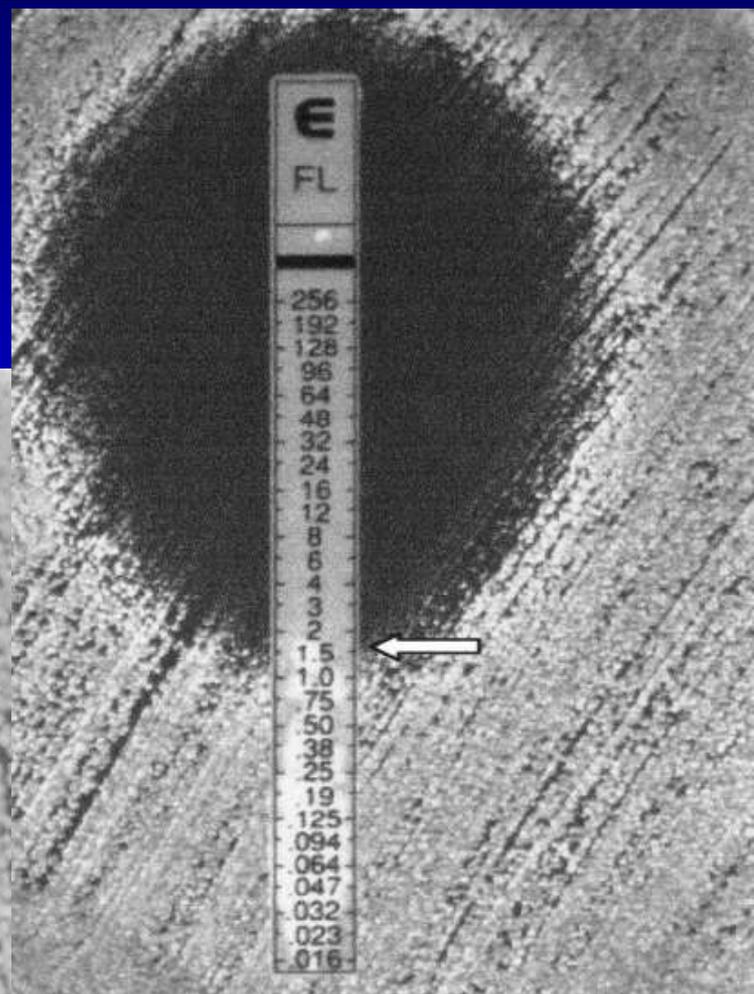
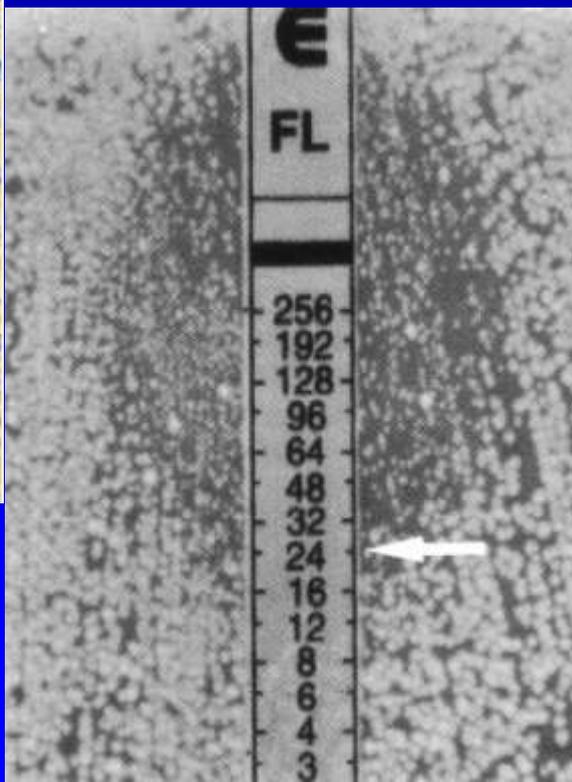
**MIC 0.012 µg/ml**

# *C. tropicalis*

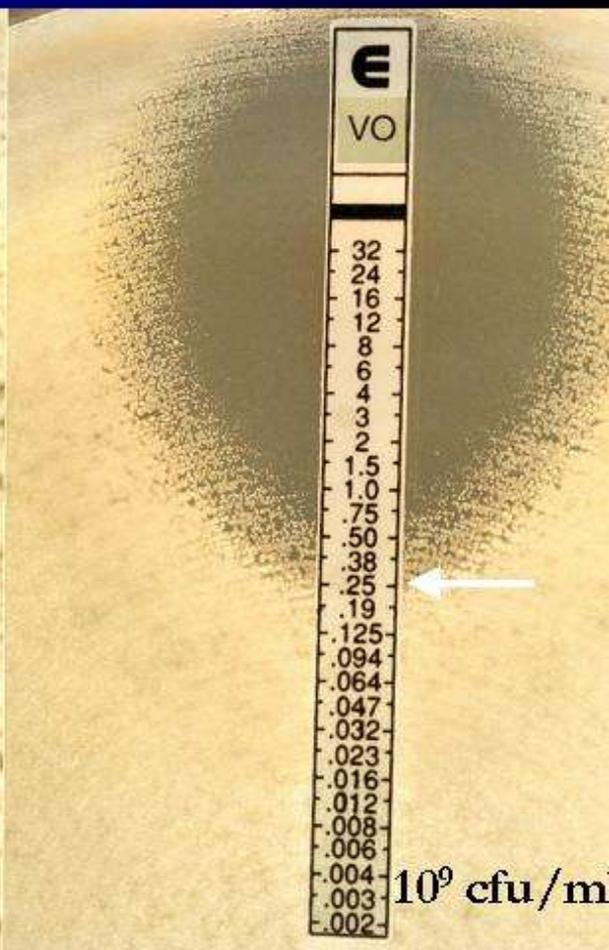
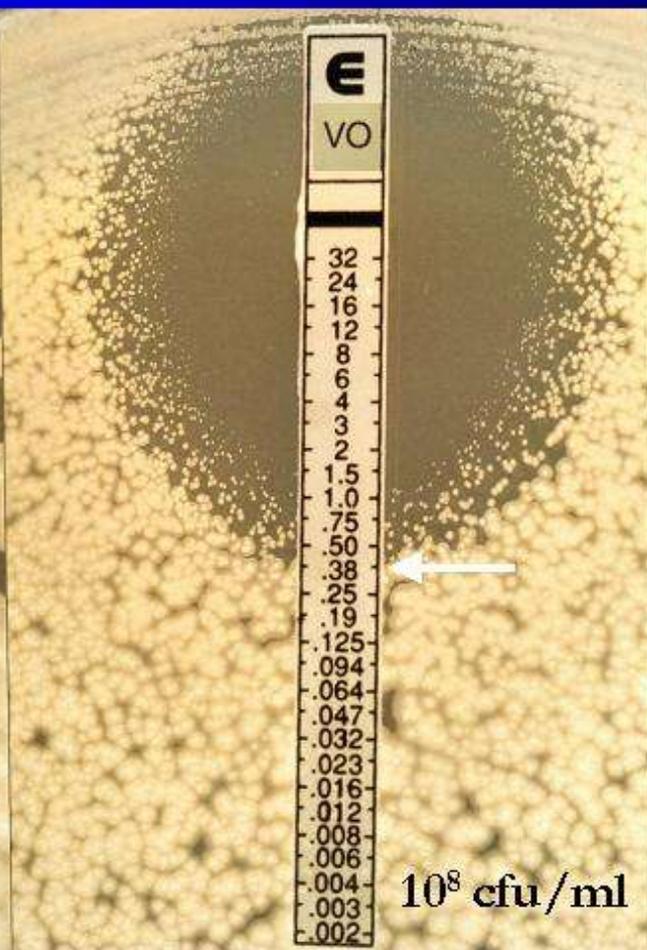
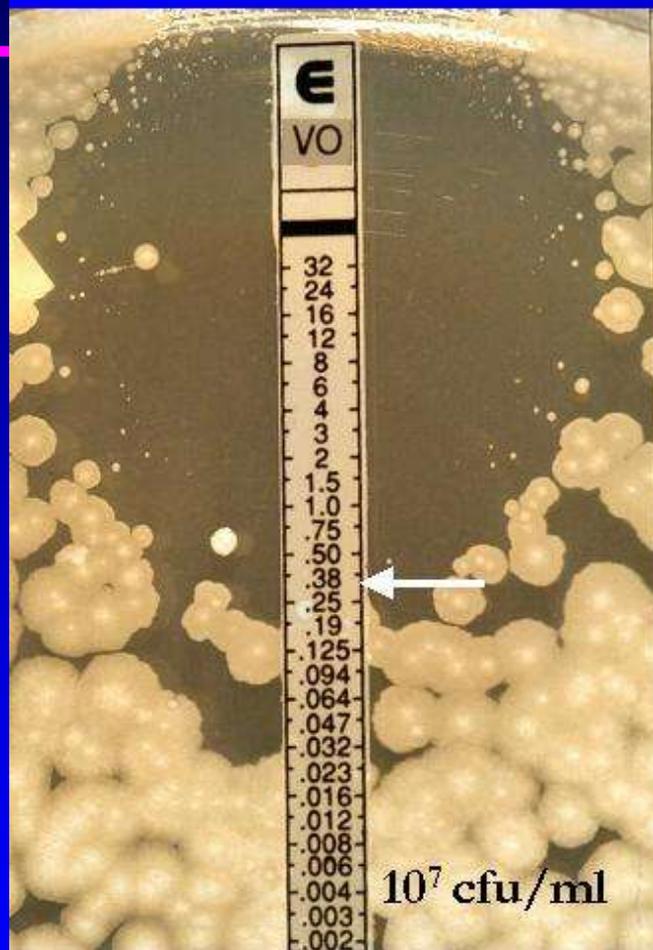
trailing end-point  
MIC 0.094  $\mu\text{g/ml}$



# MÉTODOS BASADOS EN LA DIFUSIÓN: E-TEST



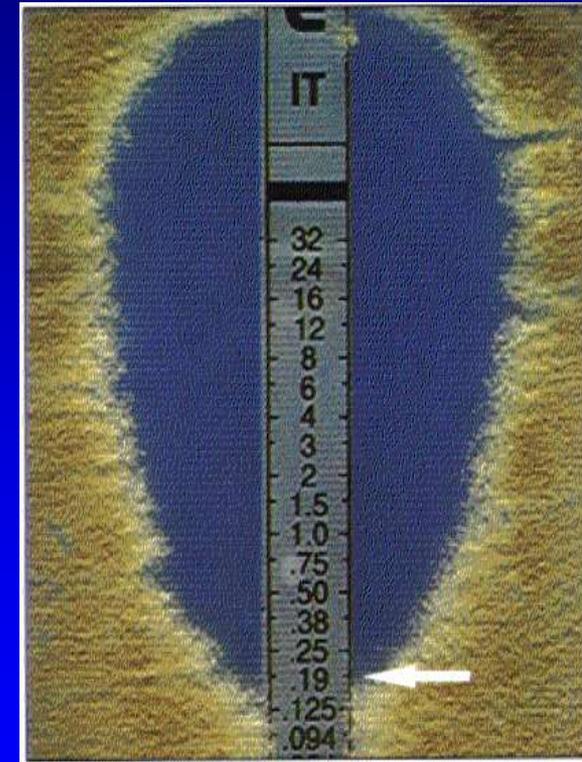
# Minimal inoculum effects on Voriconazole MIC



*C. krusei*

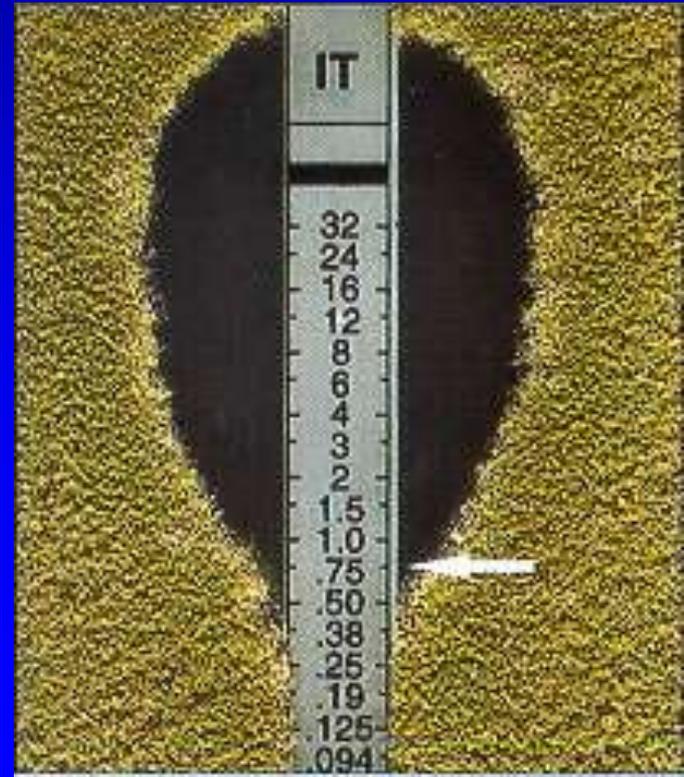
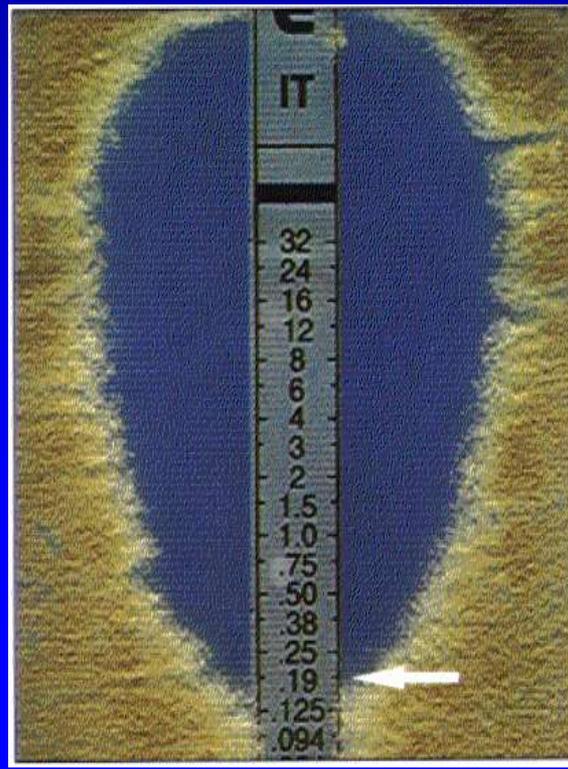
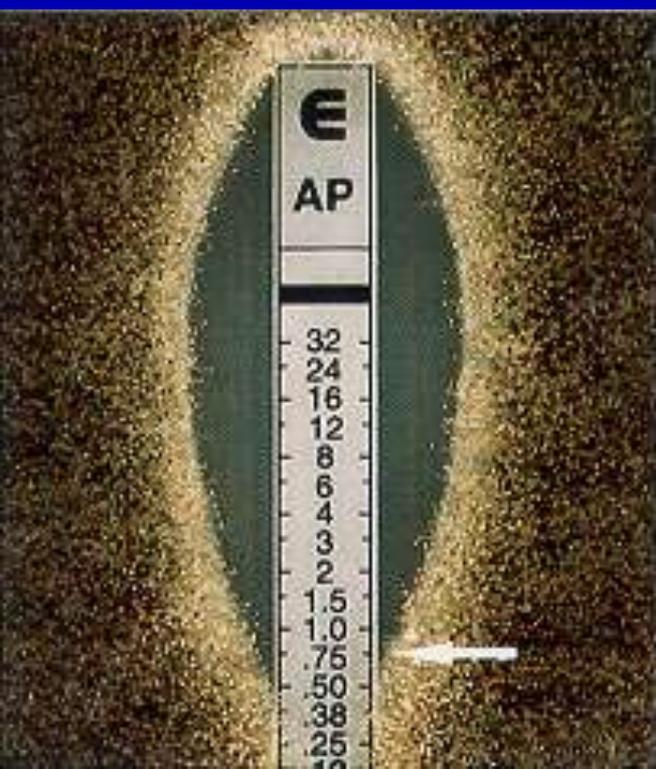
# MÉTODOS DE SENSIBILIDAD PARA HONGOS FILAMENTOSOS: E-TEST

- Medio: RPMI con 2% de glucosa
- Incubación: 48 h para *Aspergillus*
- Inóculo igual al M38-A (0,5 MF)
- Sembrar en tres direcciones
- Buena correlación con el M38-A2



# MÉTODOS DE SENSIBILIDAD PARA HONGOS FILAMENTOSOS: E-TEST

- Incubación: 48 h para *Aspergillus*
- Buena correlación con el M38-A2



# **SENSIBILIDAD: INDICACIONES**

---

- 1. Identificación al nivel de especie**
- 2. No ordinariamente a todos los aislamientos**
- 3. Estudios de sensibilidad periódicos**
- 4. Candidiasis mucosas: no respuesta a tratamiento**
- 5. En candidiasis profundas**
- 6. Screening con disco de fluconazol**
- 7. IFI por hongos filamentosos: E-test**

# CANDIDA Y AZOLES

---

- *C. krusei*: \*menor afinidad de la diana por el fluconazol
- *C. glabrata*: \*sensibilidad variable a fluconazol, dependiente de la dosis, a priori sensible
  - \*elevada tasa de mutación
  - \*CMI altas
  - \*bombas de expulsión
  - \*afectan a otros azoles
  - \*sólo en ITU



# Actividad de los azoles frente a las diferentes especies de *Candida*

Especie	Fluconazol	Itraconazol	Voriconazol	Posaconazol
<i>C. albicans</i>	S	S	S	S
<i>C. parapsilosis</i>	S	S	S	S
<i>C. tropicalis</i>	S	S	S	S
<i>C. lusitaniae</i>	S	S	S	S
<i>C. glabrata</i>	SDD	variable	variable	S
<i>C. krusei</i>	R	S	S	S

# CANDIDA Y OTROS ANTIFÚNGICOS

---

- *C. guilliermondii* y *lusitaniae*:

\*pueden adquirir resistencia a ANB

- *C. guilliermondii* y *parapsilosis*:

\*Mutación intrínseca en las subunidades Fks1 y 2 de la glucan-sintetasa

\*CMI elevada frente a equinocandinas

\*Repercusión clínica por determinar

\*Vigilar la respuesta del paciente, sobre todo si CMI previa es alta

# OTRAS LEVADURAS

- *Saprochaete capitata* (*Blastoschizomyces capitatus*)
  - \*datos contradictorios
  - \*Poco sensible o resistente a fluco y equinocandinas
  - \*S a ANB y voriconazol (tto combinado)



# BASIDIOMICETOS

- Déficit de B-glucano: resistencia a candinas
- *C. neoformans*:
  - \*Sensible a los azoles y a la ANB
- *Malassezia*
  - \*Retirada del catéter o infusión
  - \*Fluconazol o ANB
- *Trichosporon*
  - \**T. asahii*: resistente a ANB
  - \*Fluconazol: variable
  - \*Vori e itra son los más potentes frente a todos



# TRATAMIENTO DE LA CANDIDEMIA

---

1. Especie no identificada: equinocandina
2. Formas leves, sin azol previo, no colonización por *C. krusei* o *C. glabrata*: Fluconazol (600-800 mg/d)
3. Si la especie identificada es S a Fluconazol (CANALB, CANTRO o CANPAR) seguir con 400 mg/d
4. CANKRU: Vori, equinocandina o ANB liposomal
5. CANLUS: Equinocandina o Fluconazol
6. CANPAR y CANGUI son menos S a equinocandinas: F, V
7. CANGLA y CANFAM: puede desarrollar R a Fluconazol
8. CANKRU y CANNOR: son R a fluconazol
9. Basidiomicetos (Criptococo, Trichosporon): R a EQC

# ASPERGILLUS

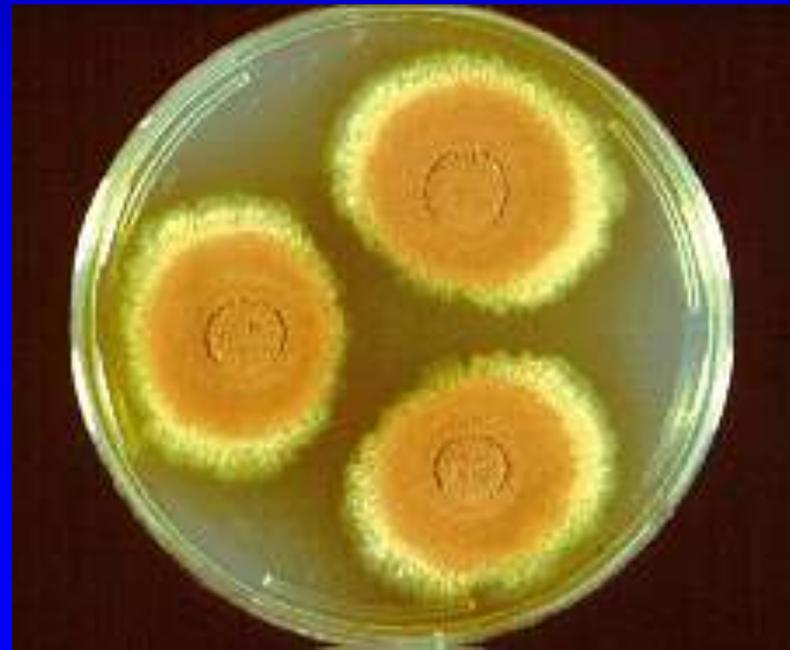
- *A. terreus*:

\*resistente a ANB

\*sensible a voriconazol y  
candinas

- *A. flavus*:

\*algunas cepas son R a ANB



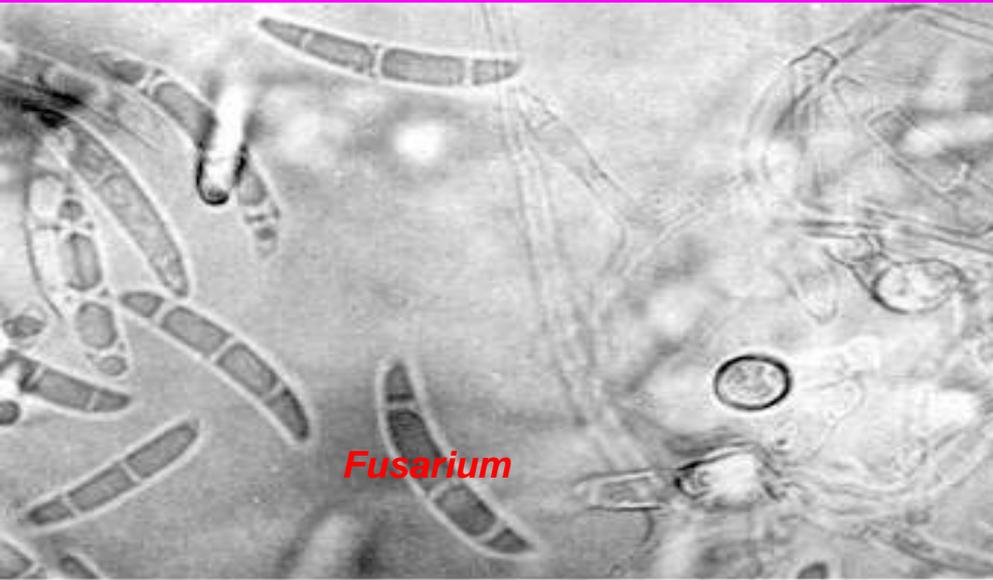
# MUCORALES (M38-A)

---

- No existen puntos de corte
- Anfotericina B: presenta las CMI más bajas
  - \*CMI: 0,5-2
  - \*Antifúngico de elección
- Equinocandinas (CMI>128): inactivas
  - \*Sinérgicas con ANB y posaconazol
- Fluconazol: inactivo frente a hongos filamentosos
- Vori e itraconazol: inactivos
- Posaconazol (CMI: 0,25-2): alternativa a la ANB



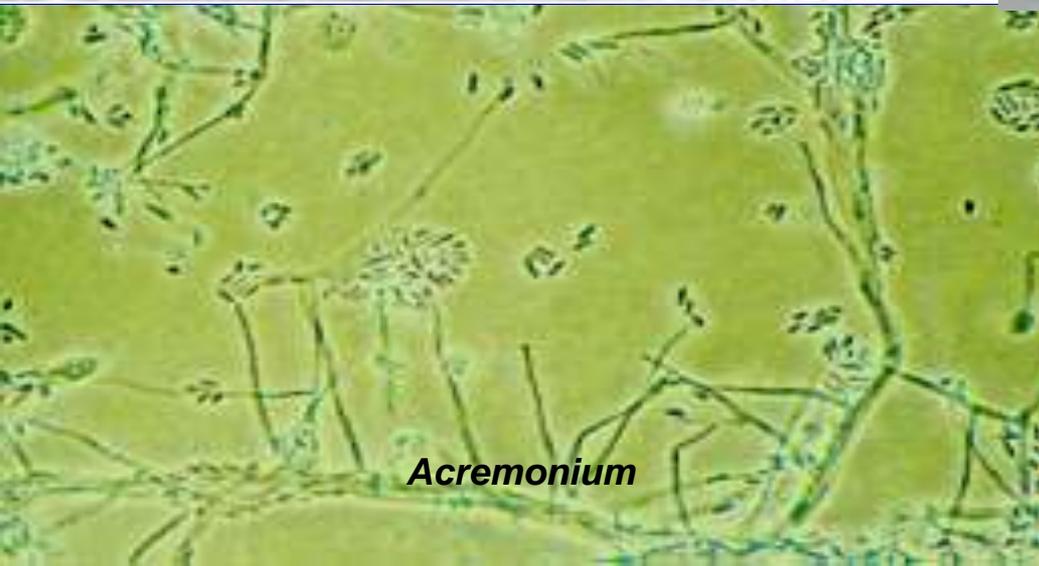
# HONGOS EMERGENTES



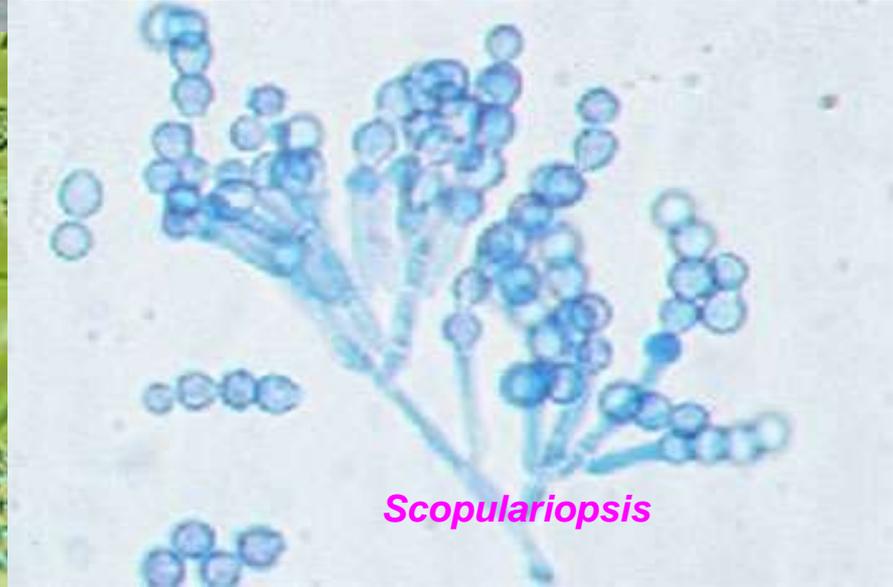
*Fusarium*



*Scedosporium*



*Acremonium*



*Scopulariopsis*

# HONGOS EMERGENTES: *FUSARIUM*



- Elevadas CMI frente a la mayoría de antifúngicos (ANB)
- Equinocandinas (CMI>32): inactivas
- Poca experiencia en el tratamiento
- *F. solani* (50%): CMI elevadas a azoles y ANB
- *F. oxysporum*: más sensibles a vori y posaconazol
- Respuesta del 40% en series pequeñas:
  - \*ANB + otros antifúngicos
  - \*Voriconazol en casos refractarios (45%)

# HONGOS EMERGENTES:

## *Scedosporium*



### - *S. apiospermum*:

\*Voriconazol es el más activo CMI90: 0,25

\* Caspofungina CMI90:1-4

\*ANB: CMI elevadas. Se debe evitar

\*Recuperación de la neutropenia

### - *S. prolificans*: resistente a la mayoría

\*ANB, voriconazol, candinas

\*Voriconazol + terbinafina



# PATRÓN HABITUAL DE SENSIBILIDAD: HONGOS FILAMENTOSOS

	ANB	ITRA	VORI	POSA	CANDINAS
<i>A. fum</i>	S	S	S	S	S
<i>A. terr</i>	R	S	S	S	S
<i>F. solani</i>	R	R	S	S	R
<i>S. api</i>	R	R	S	S	S
<i>S. pro</i>	R	R	R	R	R
Mucorales	S	R	R	S	R

# CONCLUSIÓN

	ANB	FLUCO	ITRA	VORI	POSA	CANDINAS
<i>Candida sp</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>C. Glabrata</i>	+++	0/+	+	++	++	+++
<i>C. Krusei</i>	+++	0	++	+++	+++	+++
<i>C. Lusitaniae</i>	+/0	+++	+++	+++	+++	+++
<i>C. Parapsilosis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+/+++
<i>Aspergillus</i>	+++	0	+++	+++	+++	+++
<i>A. terreus</i>	0	0	+++	+++	+++	+++
Mucorales	+++	0	0	0	++	0
<i>Cryptococcus</i>	+++	+++	++	+++	+++	0
Emergentes	+/++	0	0/+	++	+?	0



Muchas gracias



