



EUCAST

EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases



CLINICAL AND
LABORATORY
STANDARDS
INSTITUTE®

Mykologie- Time to change?

Birgit Willinger

Klinische Abteilung für Mikrobiologie

Klinisches Institut für Labormedizin

Medizinische Universität Wien

EUCAST Reloaded 2.0.

22.3.2012

Wozu Resistenztestung?

Wozu Breakpoints?

Es sollen die Stämme, bei denen mit keinem Ansprechen gegenüber dem getesteten Antimykotikum zu rechnen ist, auf möglichst einfache und verlässliche Art erkannt werden.

Breakpoints sollen ermöglichen zwischen Patienten mit wahrscheinlichem und unwahrscheinlichem therapeutischen Ansprechen zu unterscheiden.

Spezies Identifikation

Der erste Schritt der Resistenztestung

- *C. krusei*: keine Verwendung von Fluconazol
- *C. glabrata*: Fluconazol wird nicht mehr empfohlen (EUCAST)
- *C. parapsilosis* – Achtung bei Echinocandinen

- *C. rugosa*
- *C. norvegensis*
- *C. lipolytica*
- *C. valida*
- *C. inconspicua*
- *C. zeylanoides*

- *Trichosporon*
- *Rhodotorula*
- *Malassezia*

Reduzierte Empfindlichkeit gegenüber
Azolen

Echinocandine -
nur geringe Aktivität

Standardisierte Methoden zur Resistenzbestimmung

- **EUCAST - fermentierende Hefen**
- **EUCAST – Schimmelpilze (Aspergillus)**
- **CLSI M27-A3- Makro/Mikrodilution –Hefen**
- **CLSI M38-A – Mikrodilution/Schimmelpilze**
- **CLSI M 44-A2 – Agardiffusion/Hefen**
- **CLSI M 51-A – Agardiffusion/Schimmelpilze**
- **DIN 58940-84 – Mikrodilution (Hefen)**

Mikrodilution

Unterschiede zwischen CLSI und EUCAST

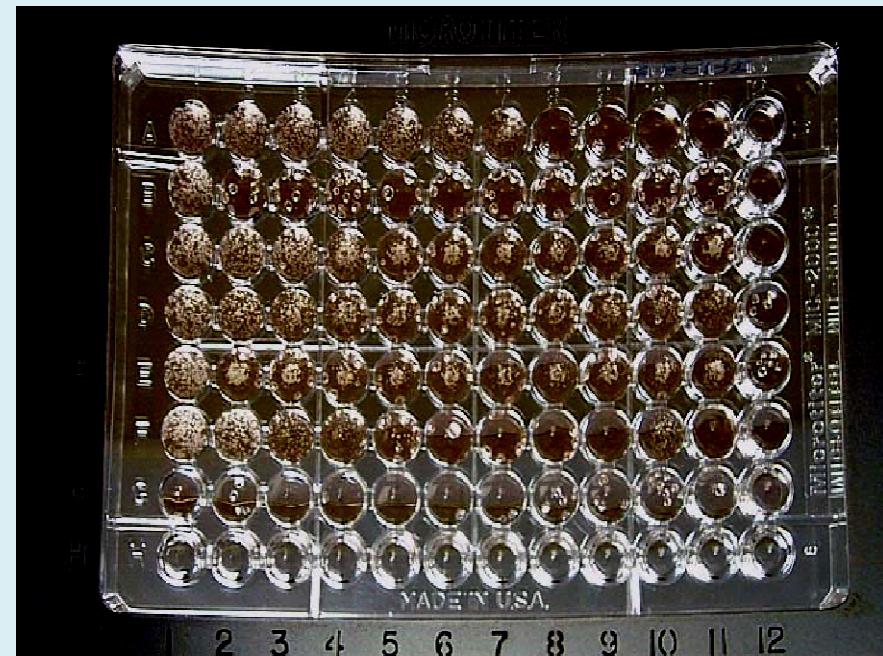
	CLSI M27A3	EUCAST EDef 7.1
Glucose concentration in RPMI 1640	0.2%	2%
Shape of well in microtiter plate	Round bottom	Flat bottom
Inoculum size	$0.5-2.5 \times 10^3$	$0.5-2.5 \times 10^5$
Incubation time	48 hours*	24 hours
Readout	Visual	Spectrophotometric
Endpoint		
Amphotericin B	Optically clear	Lowest concentration to inhibit growth by $\leq 90\%$
Azole drugs and echinocandins	Prominent decrease	Lowest concentration to inhibit growth by $\leq 50\%$

*except for echinocandins, in which case the endpoint is achieved at 24 hours.

Hefen

Breakpoints nach EUCAST

- Spezies-spezifische Breakpoints
- Breakpoints für
 - Amphotericin B
 - Azole
 - Fluconazol
 - Voriconazol
 - Posaconazol
 - Echinocandine
 - Anidulafungin



Die ersten MHK - Breakpoints für Hefen

Antifungal Agent	Susceptible (S)	Susceptible-dose dependent (S-DD) ^a	Intermediate (I) ^b	Resistant (R)	Nonsusceptible (NS)
Anidulafungin^c	≤2	-	-	-	>2
Caspofungin^c	≤2	-	-	-	>2
Fluconazole ^d	≤8	16-32	-	≥64	-
Flucytosine ^e	≤4	-	8-16	≥32	-
Itraconazole ^f	≤0.125	0.25-0.5	-	≥1	-
Micafungin^c	≤2	-	-	-	>2
Voriconazole ^e	≤1	2	-	≥4	-

Ampho MHKs sind in einem engen Bereich verteilt, Detektion resistenter Stämme ist daher sehr schwierig; Antibiotic Medium 3 als mögliche Alternative (kontraversielle Daten)

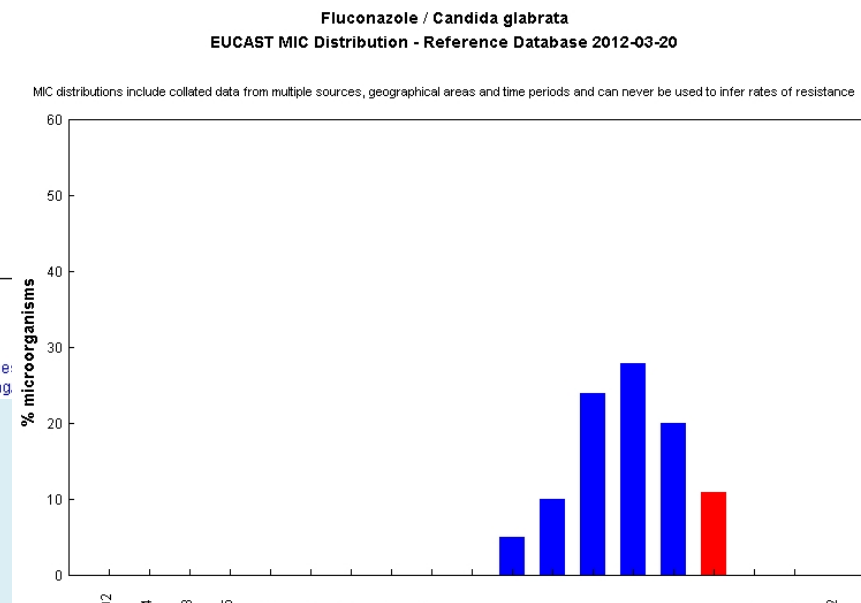
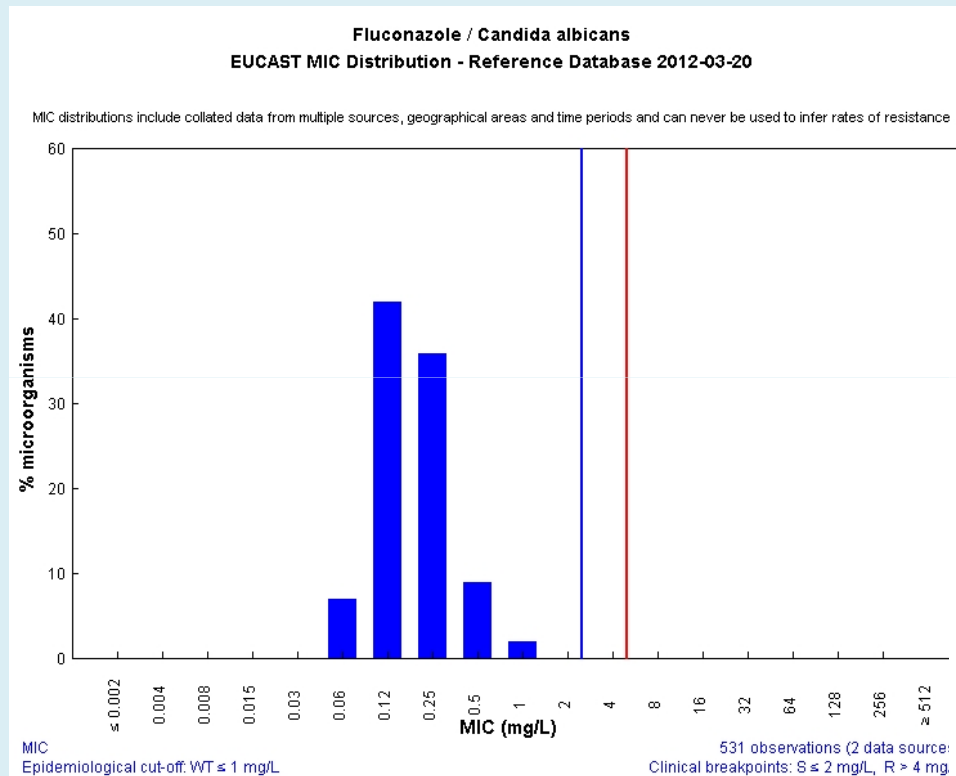
Breakpoints zu hoch um alle resistenten Stämme zu erkennen?

Hefen

Breakpoints nach EUCAST

Spezies spezifisch!

WT-Verteilung – Speziesspezifische BPs



Breakpoints dürfen nicht im Bereich der Wildtyp-Verteilungen liegen!

Hefen

Breakpoints nach EUCAST

Spezies spezifisch!

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>	
	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >
Amphotericin B	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Anidulafungin	0,03	0,03	0,06	0,06	0,06	0,06	--	--	0,06	0,06
Fluconazole	2	4	IE ²	IE ²	--	--	2	4	2	4
Posaconazole	0,06	0,06	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0,06	0,06	0,06	0,06
Voriconazole	0.12 ³	0.12 ³	IE	IE	IE	IE	0.12 ³	0.12 ³	0.12 ³	0.12 ³

Fluconazol:

C. krusei – intrinsisch resistent

C. glabrata – nicht indiziert

-- **resistent** angeben ohne Testung

IE insufficient evidence – ev. Kommentar, aber keine Kategorisierung

Itraconazol – in Vorbereitung

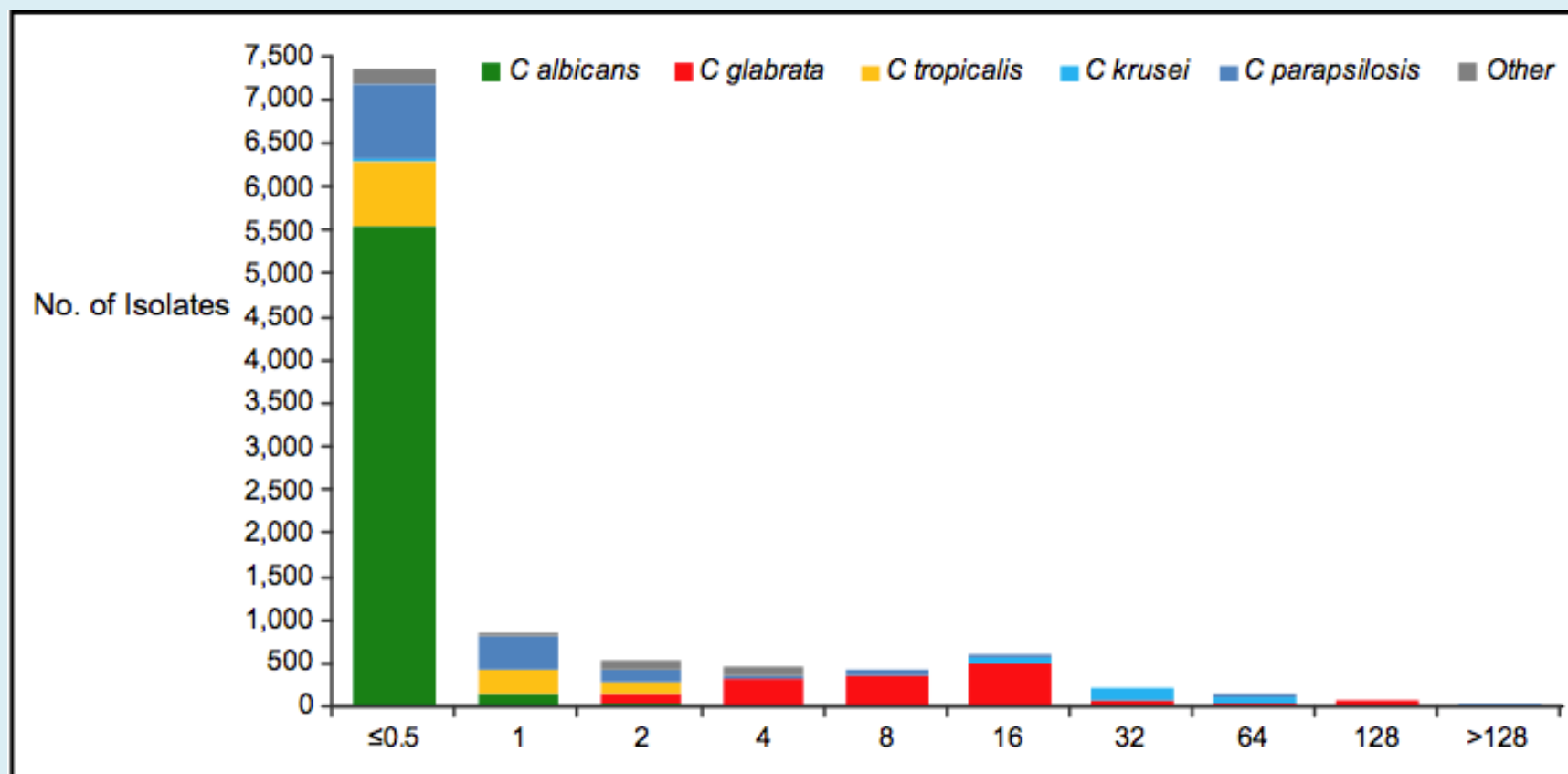
Caspofungin – wegen zu großer Variationen zwischen den Testlabors noch keine BP

Neu vorgeschlagene Breakpoints für CLSI

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>		<i>Candida lusitaniae</i>	
	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >
Fluconazol	2	4	32	32	-	-	2	4	2	4	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Voriconazol	0,125	0,5	-	-	0,5	1	0,125	0,5	0,125	0,5	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Caspofungin	0,25	0,5	0,125	0,25	0,25	0,5	-	-	0,25	0,5	2	4	2	4
Anidulafungin	0,25	0,5	0,125	0,25	0,25	0,5	-	-	0,25	0,5	2	4	0,5	1
Micafungin	0,25	0,5	0,06	0,125	0,25	0,5	-	-	0,25	0,5	2	4	0,5	1

k.A. keine Angabe

MHK-Verteilung Fluconazol (n=10.803 invasive Candida-Isolate)



Fluconazol

ECV und klinische Breakpoints für *Candida* spp. nach CLSI

Species	ECV ($\mu\text{g/mL}$)	CBP ($\mu\text{g/mL}$)
<i>C. albicans</i>	0.5	2
<i>C. tropicalis</i>	2	2
<i>C. parapsilosis</i>	2	2
<i>C. lusitaniae</i>	2	2
<i>C. glabrata</i>	32	32

Im Gegensatz zu EUCAST: CBP für *C. glabrata* und Fluconazol

CBPs sensitiver und spezifischer bezüglich Nachweis von Resistenz und Vorhersage des therapeutischen Ansprechens!

CLSI: Neue Breakpoints Voriconazol

New 24-h CLSI MIC and zone diameter interpretive breakpoints for voriconazole and *Candida*^a

Species	MIC (µg/mL) defining ^b			Zone diameter (mm) defining ^b		
	S	I	R	S	I	R
<i>C. albicans</i>	≤0.125	0.25–0.5	≥1	≥17	15–16	≤14
<i>C. tropicalis</i>	≤0.125	0.25–0.5	≥1	≥17	15–16	≤14
<i>C. parapsilosis</i>	≤0.125	0.25–0.5	≥1	≥17	15–16	≤14
<i>C. krusei</i>	≤0.5	1	≥2	≥15	13–14	≤12
<i>C. glabrata</i>						

≠EUCAST

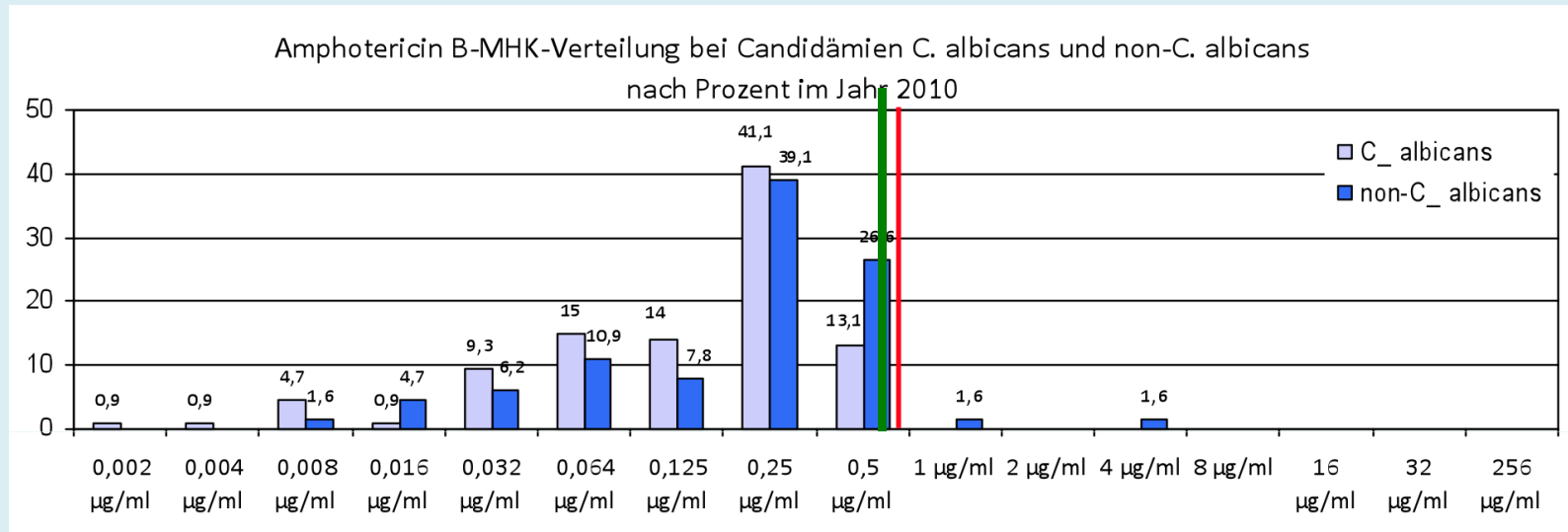
^a Breakpoints shows insufficient

Ansprechrate bei *C. glabrata* wesentlich geringer, keine Korrelation MHK - klin. Ansprechen → keine CBP, keine Empfehlung seitens IDSA

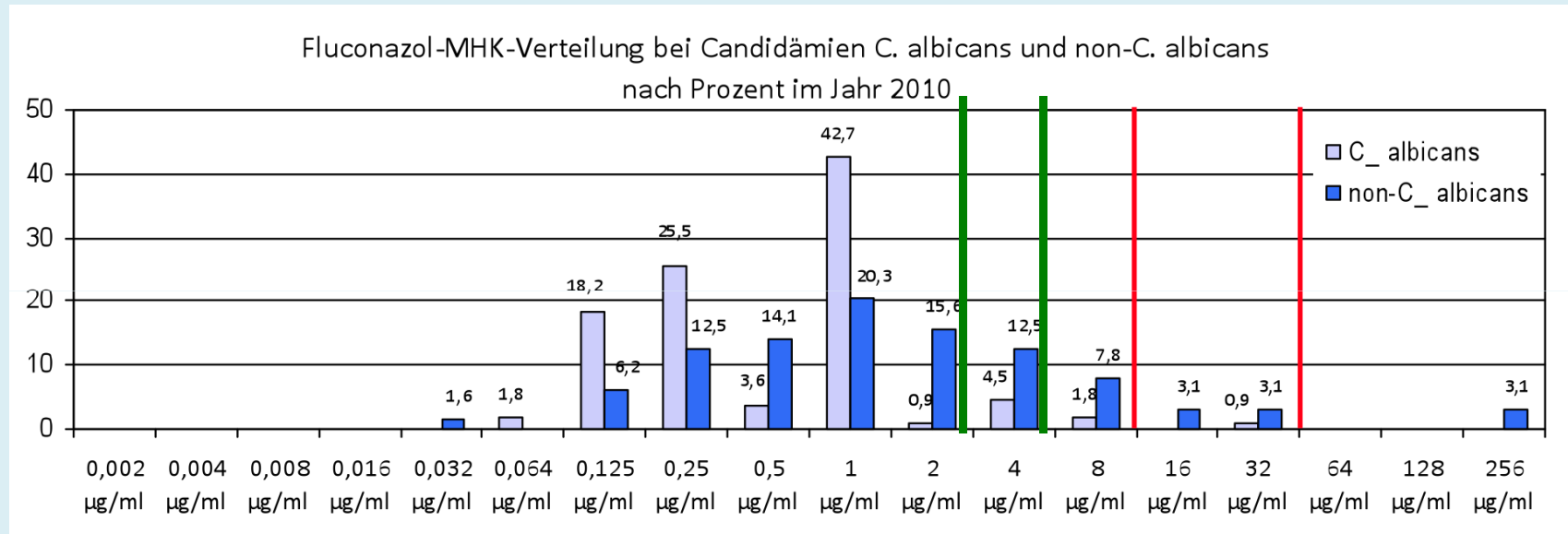
Falls nötig: 24h - ECV ≤ 0,5 µg/ml um WT von non-WT zu unterscheiden

Resistenzsituation - was würde sich ändern?

AmB

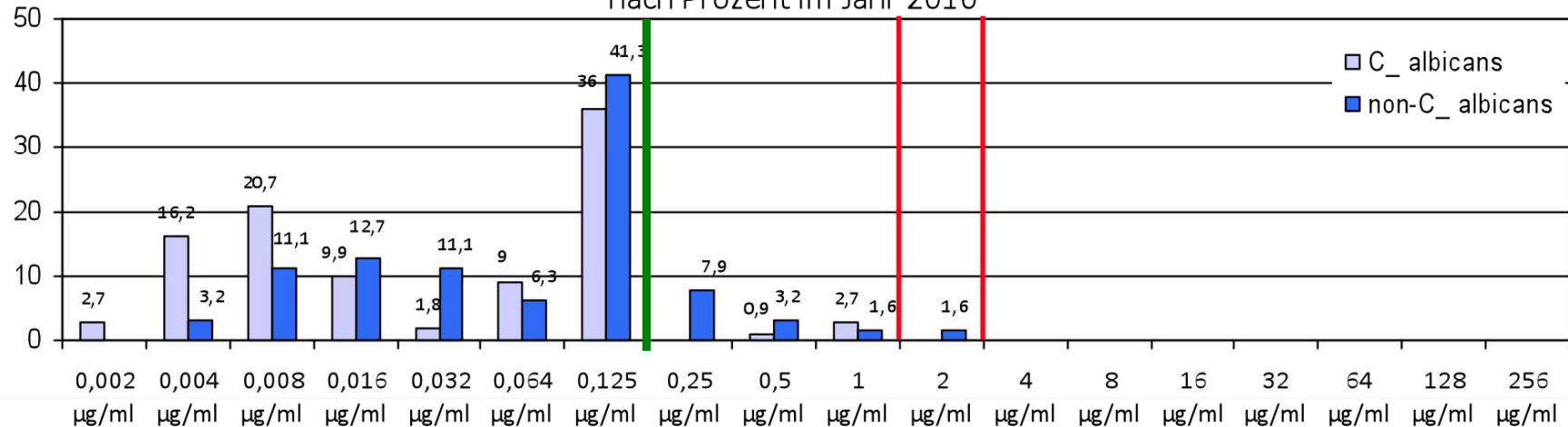


Resistenzsituation - was würde sich ändern? Triazole

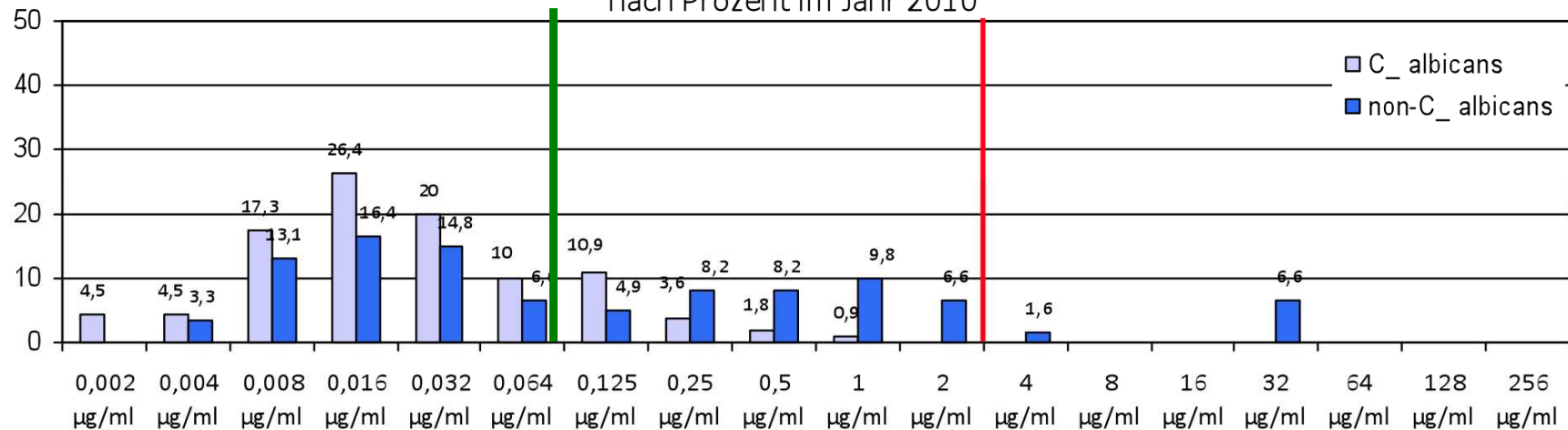


Neue Azole

Voriconazol-MHK-Verteilung bei Candidämien C. albicans und non-C. albicans
nach Prozent im Jahr 2010

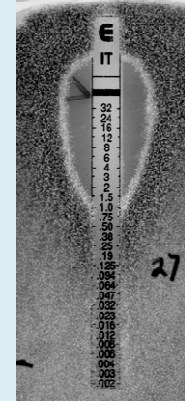


Posaconazol-MHK-Verteilung bei Candidämien C. albicans und non-C. albicans
nach Prozent im Jahr 2010





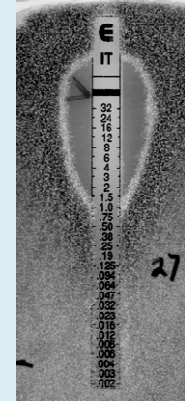
Korrelation EUCAST/CLSI und kommerzielle Methoden



Antifungal agent ^a	Vitek and EUCAST	Vitek and CLSI24H	Vitek and CLSI48H	Etest and EUCAST
AMB	98.7	99.3	100	98.4
5FC	98.0	98.6	96.0	96.4
FLC	97.5	96.6	96.2	97.2
VRC	97.5	96.8	96.6	95.2
Total	97.9	97.8	97.3	96.8



Korrelation EUCAST/CLSI und kommerzielle Methoden



Antifungal agent ^a	No. of errors or discrepancies between EUCAST and ^b :									
	Vitek					Etest				
	VME	ME	MiE	SD	NSD	VME	ME	MiE	SD	NSD
AMB				0	2				0	5
5FC				0	3				1	4
FLZ	8	0	23			7	0	24		
VOR	0	0	10			0	0	6		
Total	8	0	33	0	5	7	0	30	1	9

Eigene Daten zu Posaconazol

Isolat	CLSI 24h	CLSI 48h	CLSI photom.	Eucast 24h	Eucast photom.	E-Test
<i>C.parapsilosis</i> ATCC 20019	0,25	0,25	0,25	0,12	0,12	0,023
	0,25	0,12	0,12	0,12	0,12	0,023
Sollwerte	0,06-0,25	0,06-0,25			0,015-0,06	
<i>C.krusei</i> ATCC 6258	0,25	0,25	0,25	0,25	0,12	0,032
	0,25	0,12	0,25	0,12	0,12	0,047
Sollwerte	0,06-0,5	0,12-1,0			0,015-0,06	
C.a.	0,06	0,06	0,06	0,015	0,015	0,016
C.a.	0,12	0,12	0,06	0,03	0,03	0,012
C.a.	0,06	0,12	0,06	0,06	0,03	0,016
C.a.	0,06	0,06	0,06	0,015	0,015	0,008
C.a.	0,12	0,12	0,06	0,015	0,015	0,008
C.a.	0,06	0,06	0,06	0,015	0,015	0,008
C.a.	0,06	0,06	0,06	0,015	0,015	0,006
C.a.	0,12	0,12	0,06	0,03	0,03	0,006
C.a.	0,06	0,06	0,06	0,015	0,015	0,004
C.a.	1	1	1	1	0,5	1,5
C.glabr.	0,5	1	0,5	1	0,5	32
C.glabr.	1	1	1	1	1	6
C.glabr.	0,5	0,25	1	1	1	1,5
C.glabr.	0,25	0,5	0,25	0,25	0,25	0,38



Agardiffusion

- Standardisierte Verfahren nach CLSI für
 - Hefen M44-A2
 - Fluconazol
 - Voriconazol
 - Fadenpilze M51-A (ohne Dermatophyten)
 - AmB
 - Itraconazol, Voriconazol, Posaconazol
 - Caspofungin

Breakpoints vorhanden!

keine klinischen BPs, jedoch ECV

Agardiffusion von EUCAST?

Candida und Echinocandine

- IDSA Guidelines empfehlen Echinocandine bei kritisch kranken Patienten mit invasiver Candidose oder bei Patienten mit vorheriger Azolgabe
- CLSI legte 2007 klinische Breakpoints von $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ für alle Echinocandine fest
- Werden damit auch die Isolate mit *fks* Mutationen erkannt?

Candida und Echinocandine

- IDSA Guidelines empfehlen Echinocandine bei kritisch kranken Patienten mit invasiver Candidose oder bei Patienten mit vorheriger Azolgabe
- CLSI legte 2007 klinische Breakpoints von $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ für alle Echinocandine fest
- Werden damit auch die Isolate mit *fks* Mutationen erkannt?
 - MHK dieser Stämme kann durchaus niedriger sein

Candida und Echinocandine

- IDSA Guidelines empfehlen Echinocandine bei kritisch kranken Patienten mit invasiver Candidose oder bei Patienten mit vorheriger Azolgabe
- CLSI legte 2007 klinische Breakpoints von $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ für alle Echinocandine fest
- Werden damit auch die Isolate mit *fks* Mutationen erkannt?
 - MHK dieser Stämme kann durchaus niedriger sein
 - MHK < 0,5 sensitiver bei der Detektion von Stämmen

Wildtyp MHK-Verteilung

Species	Antifungal agent	No. of isolates tested	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			% Isolates with MIC of $\leq 2 \mu\text{g/ml}$
			Range	Mode	ECV (%) ^a	
<i>C. albicans</i>	Anidulafungin	4,283	0.007–1	0.03	0.12 (99.7)	100.0
	Caspofungin	4,283	0.007–0.5	0.03	0.12 (99.8)	100.0
	Micafungin	4,283	0.007–0.5	0.015	0.03 (97.7)	100.0
<i>C. glabrata</i>	Anidulafungin	1,236	0.015–4	0.06	0.25 (99.4)	99.9
	Caspofungin	1,236	0.015–8	0.03	0.12 (98.5)	99.8
	Micafungin	1,236	0.007–2	0.015	0.03 (98.2)	100.0
<i>C. tropicalis</i>	Anidulafungin	996	0.007–2	0.03	0.12 (98.9)	100.0
	Caspofungin	996	0.007–>8	0.03	0.12 (99.4)	99.9
	Micafungin	996	0.007–1	0.015	0.12 (99.1)	100.0
<i>C. kefyr</i>	Anidulafungin	61	0.015–0.12	0.06	0.25 (100.0)	100.0
	Caspofungin	61	0.007–0.03	0.015	0.03 (100.0)	100.0
	Micafungin	61	0.015–0.06	0.06	0.12 (100.0)	100.0
<i>C. krusei</i>	Anidulafungin	270	0.015–0.5	0.03	0.12 (99.3)	100.0
	Caspofungin	270	0.015–1	0.06	0.25 (96.3)	100.0
	Micafungin	270	0.015–0.25	0.06	0.12 (97.8)	100.0
<i>C. lusitaniae</i>	Anidulafungin	99	0.06–1	0.5	2 (100)	100.0
	Caspofungin	99	0.03–1	0.25	0.5 (98.0)	100.0
	Micafungin	99	0.007–1	0.12	0.5 (99.0)	100.0
<i>C. parapsilosis</i>	Anidulafungin	1,238	0.015–4	2	4 (100.0)	93.1
	Caspofungin	1,238	0.015–4	0.25	1 (98.6)	99.9
	Micafungin	1,238	0.015–2	1	4 (100)	100.0
<i>C. guilliermondii</i>	Anidulafungin	88	0.06–4	2	16 (100.0)	92.0
	Caspofungin	88	0.03–>8	0.5	4 (95.5)	95.5
	Micafungin	88	0.015–>8	0.5	4 (98.9)	98.9

MIC Distributions of Caspofungin vs *Candida* spp. with and without *fks1/fks2* Mutations

Species (no.tested)	Test method	No. of isolates at MIC (showing mutation)								
		≤ 0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	> 8
<i>C. albicans</i> (52)	CLSI	15	23	3	-	2 (2)	1 (1)	3 (3)	2 (2)	3 (3)
	EUCAST	30	1	-	1	9	1 (1)	6 (6)	-	-
	Etest	22	15	4	2 (2)	-	-	3 (3)	4 (4)	4 (4)
<i>C. glabrata</i> (53)	CLSI	1	20	7	3 (1)	1	8 (3)	5 (4)	2 (2)	5 (4)
	EUCAST	20	3	2	1	10	2 (1)	7 (5)	7 (5)	5 (5)
	Etest	2	(1)	11	7 (1)	4	5 (4)	5 (3)	5 (3)	3 (3)
<i>C. tropicalis</i> (31)	CLSI	8	12	3	3 (1)	-	1 (1)	2 (2)	2 (2)	-
	EUCAST	7	2	1	1	11	4	3 (3)	3 (3)	-
	Etest	9	7	4	4	1 (1)	-	-	-	3 (3)

→ CBP von 2 mg/L ungeeignet!

Breakpoints für Anidulafungin (EUCAST)

Candida sp.	Sensibel	Resistent
C. albicans	< 0,03 mg/L	> 0,03 mg/L
C. glabrata		
C. krusei		
C. tropicalis	< 0,06 mg/L	> 0,06 mg/L

- Nicht gültig für *C. parapsilosis*

Neue Breakpoints für Echinocandine

Species	MIC breakpoint for S/MIC breakpoint for R ($\mu\text{g/ml}$)		
	Anidulafungin	Caspofungin	Micafungin
<i>C. albicans</i> ^a	$\leq 0.25/\geq 1$	$\leq 0.25/\geq 1$	$\leq 0.25/\geq 1$
<i>C. dubliniensis</i> ^b	$\leq 0.25/\geq 1$	$\leq 0.25/\geq 1$	$\leq 0.25/\geq 1$
<i>C. glabrata</i> ^a	$\leq 0.125/\geq 0.5$	$\leq 0.125/\geq 0.5$	$\leq 0.06/\geq 0.25$
<i>C. krusei</i> ^a	$\leq 0.25/\geq 1$	$\leq 0.25/\geq 1$	$\leq 0.25/\geq 1$
<i>C. tropicalis</i> ^a	$\leq 0.25/\geq 1$	$\leq 0.25/\geq 1$	$\leq 0.25/\geq 1$
<i>C. parapsilosis</i> ^a	$\leq 2/\geq 8$	$\leq 2/\geq 8$	$\leq 2/\geq 8$
<i>C. guilliermondii</i> ^a	$\leq 2/\geq 8$	$\leq 2/\geq 8$	$\leq 2/\geq 8$
<i>C. lusitaniae</i> ^c	$\leq 2/\geq 8$	$\leq 0.5/\geq 2$	$\leq 0.5/\geq 2$

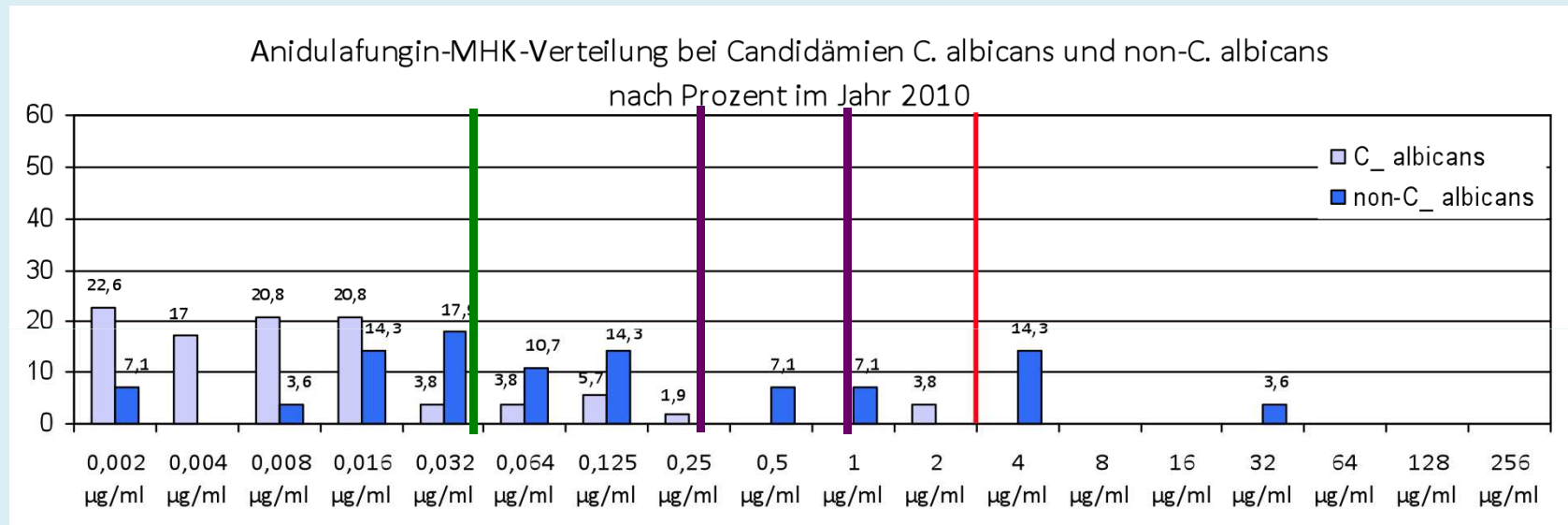
^a CLSI breakpoints as approved at the CLSI meeting, 9 to 11 January 2011, Orlando, FL, and based on reference 28.

^b Based on *C. albicans*, because MICs for *C. albicans* and *C. dubliniensis* are similar, and no breakpoints have been established for *C. dubliniensis*.

^c Based on epidemiological cutoff values (ECVs) described previously by Pfaller et al. (27).

Keine Empfehlung der IDSA für First Line Therapie bei *C. parapsilosis*!

Echinocandine



Breakpoints für Aspergillus ECOFFs nach EUCAST

Antifungal agent	MIC breakpoint (mg/L)											
	<i>A. flavus</i>		<i>A. fumigatus</i>		<i>A. nidulans</i>		<i>A. niger</i>		<i>A. terreus</i>		Non-species related breakpoints ¹	
	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >
Amphotericin B	IE ²	IE ²	1	2	Note ³	Note ³	1	2	-	-	IE	IE
Anidulafungin	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
Caspofungin	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
Fluconazole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Itraconazole⁴	1	2	1	2	1	2	IE ^{2,5}	IE ^{2,5}	1	2	IE ⁵	IE ⁵
Micafungin	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
Posaconazole	IE ²	IE ²	0.12 ⁶	0.25 ⁶	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0.12 ⁶	0.25 ⁶	IE	IE
Voriconazole	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP	IP

Epidemiological Cutoff Values für Azole und *Aspergillus* spp. – Vorschlag für CLSI

Species	No. tested	ECV (µg/ml)		
		ITR	PSC	VRC
<i>A. fumigatus</i>	2815	1	0.25	1
<i>A. flavus</i>	592	1	0.5	1
<i>A. niger</i>	520	2	1	2
<i>A. terreus</i>	462	2	0.5	1

Vergleich EUCAST - CLSI

Antifungal agent	MIC breakpoint (mg/L)									
	<i>A. flavus</i>		<i>A. fumigatus</i>		<i>A. nidulans</i>		<i>A. niger</i>		<i>A. terreus</i>	
	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >	S ≤	R >
Itraconazole ⁴	1	2	1	2	1	2	IE ^{2,5}	IE ^{2,5}	1	2
CLSI	1	1	1	1			2	2	2	2
Posaconazole	IE ²	IE ²	0.12 ⁶	0.25 ⁶	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0.12 ⁶	0.25 ⁶
CLSI	0,25	0,25	0,25	0,25			1	1	0,5	0,5



EUCAST

EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases



CLINICAL AND
LABORATORY
STANDARDS
INSTITUTE®

Time to change?

Pro:

- CLSI hat sich EUCAST sehr stark angenähert mit nunmehr geringeren Unterschieden
- Breakpoints für AmB
- ECOFFS für Aspergillus
- Updates jederzeit kostenfrei zugänglich (≠ CLSI)
- Schnelleres Einspielen der Updates

Contra:

- Höhere Anzahl von „resistenten“ Stämmen - ?
- CLSI-Breakpoints für Substanzen ohne EUCAST BP
- Agardiffusion - Plättchentest?

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!