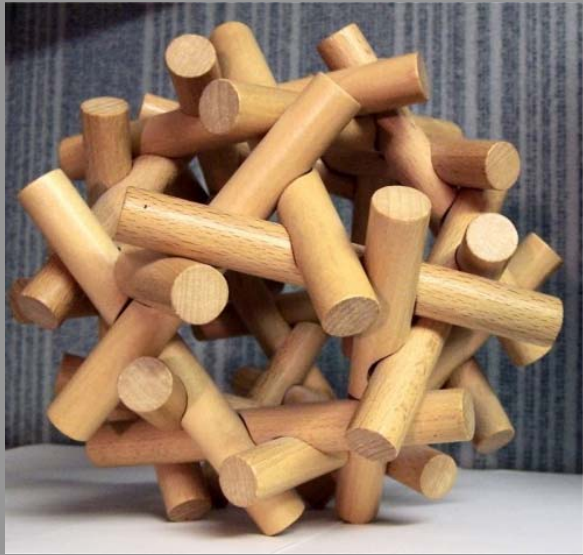


EUCAST

l'harmonisation européenne

Roland Leclercq
CHU Côte de Nacre, Caen, France

Détermination des concentrations critiques



- Important car relation avec succès thérapeutique (haute probabilité si S, basse si R)
- Pas une science exacte
- Processus complexe: Nombreux paramètres à prendre en compte

Quelle méthode de détermination? Pas de consensus



Uderzo, Eds Dupuis

Détermination des concentrations critiques



- «Approches modernes»
Evaluation clinique selon les
CMI/espèces, simulations de

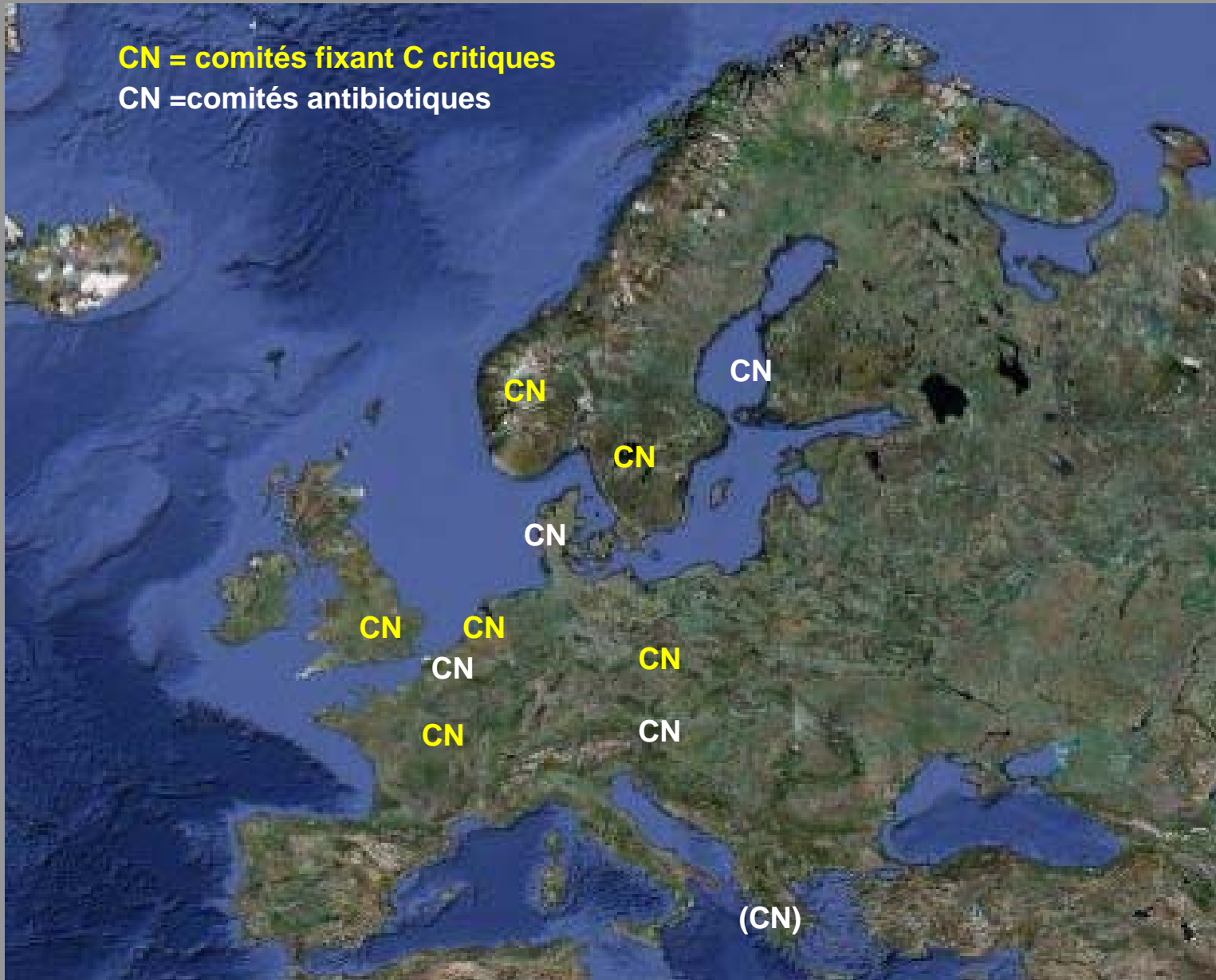


distributions de

Comités nationaux en Europe

CN = comités fixant C critiques

CN = comités antibiotiques



Harmoniser: pourquoi pas le CLSI?

>50% des pays européens ont adopté le CLSI

- Mais:

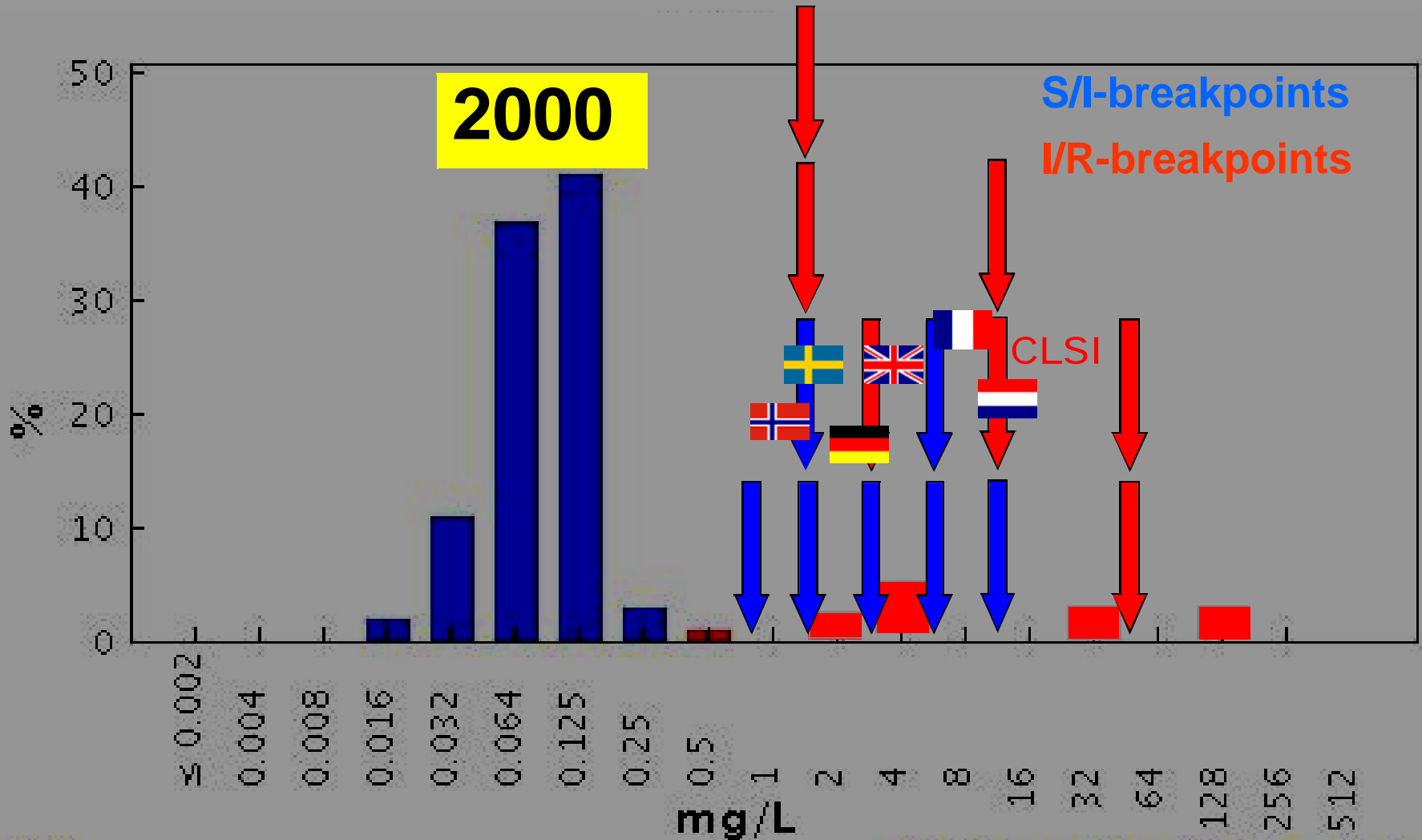
- Rationnel parfois obscur

- Fortement influencé par la situation aux USA (doses d'antibiotique administrées, antibiotiques disponibles, résistances, influence de l'industrie locale)

- Importantes différences dans les C critiques entre CLSI et comités européens

- En pratique, seule la FDA a le droit de fixer les C critiques.

Céfotaxime et *E. coli*: une certaine diversité en 2000



EUCAST data base

Pourquoi des concentrations critiques européennes?

- Pour les doses européennes d'antibiotiques (minimum et maximum)
- Basées sur les indications approuvées par l'EMEA, Pk/Pd, distributions CMI et approches nouvelles
- Acceptées par les autorités européennes (EMEA, ECDC) et seules C des RCP européens
- Indépendent des intérêts commerciaux
- Revues régulièrement à l'initiative de a) EMEA, b) la profession, c) l'industrie
- Dans le domaine public, gratuit.

Tout n'est pas simple: diverses doses selon les pays

ciprofloxacine

Dosage	BSAC UK	CA-SFM France	CRG Netherlands	DIN Germany	NWGA Norway	SRGA Sweden
Most common dose	500 x 2 oral 400 x 2 iv	500 x 2 oral 200 x 2 iv	250 x 2 oral 200 x iv	500 x 2 oral 200 x 2 iv	200-400 x 2 oral 400 x 2 iv	500 x 2 oral 400 x 2 iv
Maximum dose schedule	750 x 2 oral 400 x 3 iv	750 x 2 oral 400 x 3 iv	750 x 2 oral 400 x 3 iv	750 x 2 oral 400 x 2 iv	data pending	750 x 2 oral 400 x 3 iv



EUCAST

EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

Constitué en 1997 et restructuré en 2002

Dans le cadre de

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

National Breakpoint Committees in Europe

Financé par

ESCMID

National Breakpoint Committees in Europe

DG-SANCO of the European Union (3 year grant from May 2004)

European Centre for Disease Prevention & Control (ECDC)

(1 year interim funding from May 2007 and 3 year grant from Sept 2008)

EUCAST Steering Committee 2009

- Chairperson Gunnar Kahlmeter 2008 - 11
- Scientific secretary Derek Brown 2008 - 11
- Clinical data coordinator Rafael Canton 2008 - 11
-  • BSAC (The UK) Alasdair MacGowan 2008 - 11
-  • CA-SFM (France) Claude-James Soussy 2008 - 11
-  • CRG (The Netherlands) Johan W. Mouton 2008 - 11
-  • DIN (Germany) Arne Rodloff 2008 - 11
-  • NWGA (Norway) Arnfinn Sundsfjord 2008 - 11
-  • SRGA (Sweden) Christian Giske 2008 - 11
- General Committee rep Antti Hakanen (Finland) 2008 - 10
- General Committee rep Paul Tulkens (ISC) 2008 - 10

EUCAST General Committee

representants de chaque pays européen

Sous-comités EUCAST

- Anaérobies (Arne Rodloff)
 - Choix des antibiotiques et concentrations critiques pour anaérobies Gram négatifs et Gram positifs
 - Méthodes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques
- Règles d'expertise (Roland Leclercq)
 - tables résistances intrinsèques
 - phenotypes « impossibles »
 - lecture interprétative

Que fait l'EUCAST?

- Détermine les concentrations critiques.
- Publie des méthodes standardisées et harmonisées pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques.
- Rôle éducatif (workshops...)
- Détermine les critères pour la surveillance au niveau européen
- Assure la liaison avec les autorités européennes et les groupes internationaux de même nature (CLSI) pour tenter d'arriver à un consensus international sur les méthodes et si possible les concentrations critiques

Clinical breakpoints

Epidemiological cut-off values

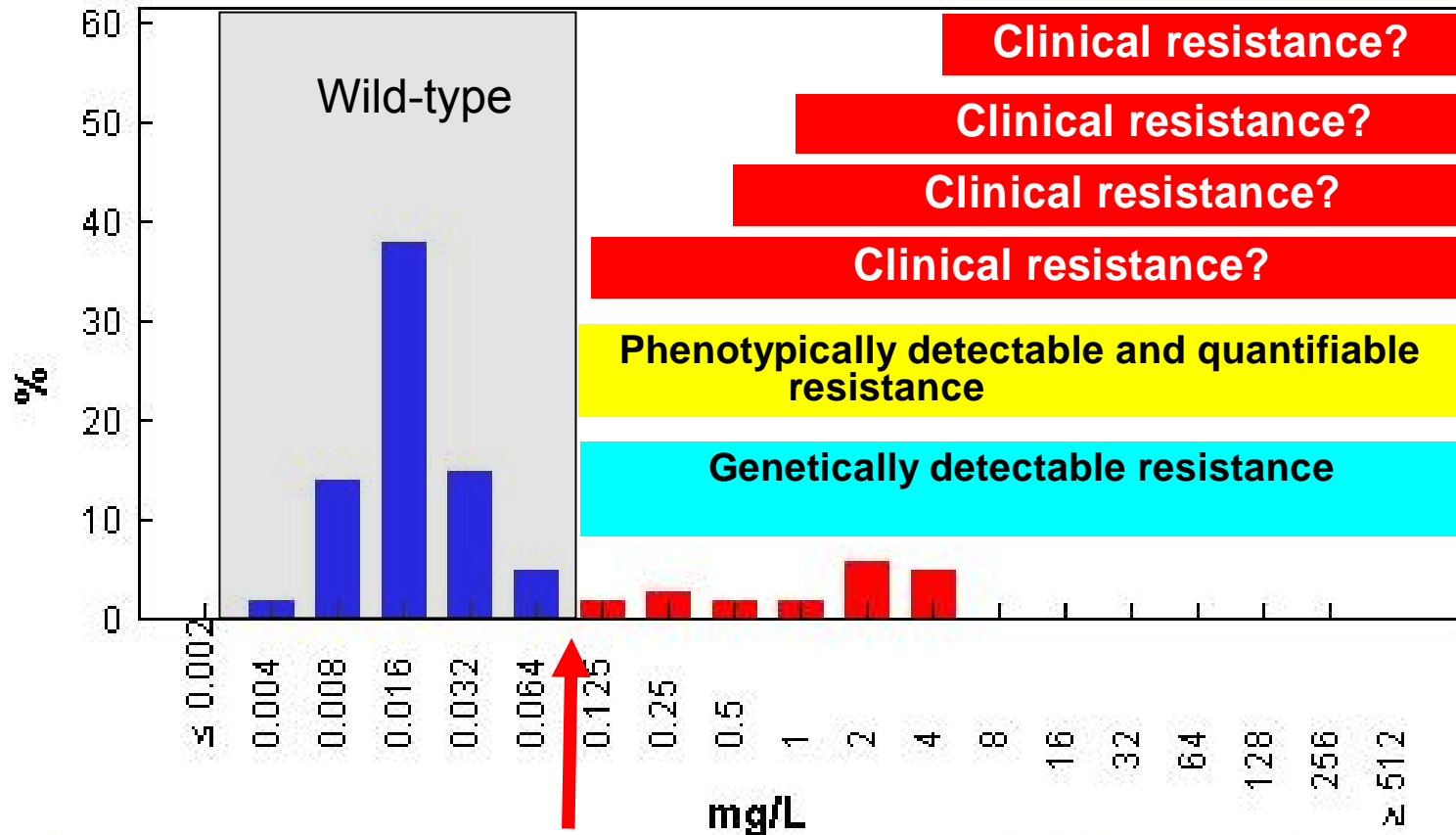
- Pour CMI
- Pour automates
- Pour diffusion en agar

Epidemiological cut-offs

Benzylpenicillin / *Streptococcus pneumoniae*

Antimicrobial wild type distributions of microorganisms - reference database

EUCAST MIC Distribution



MIC

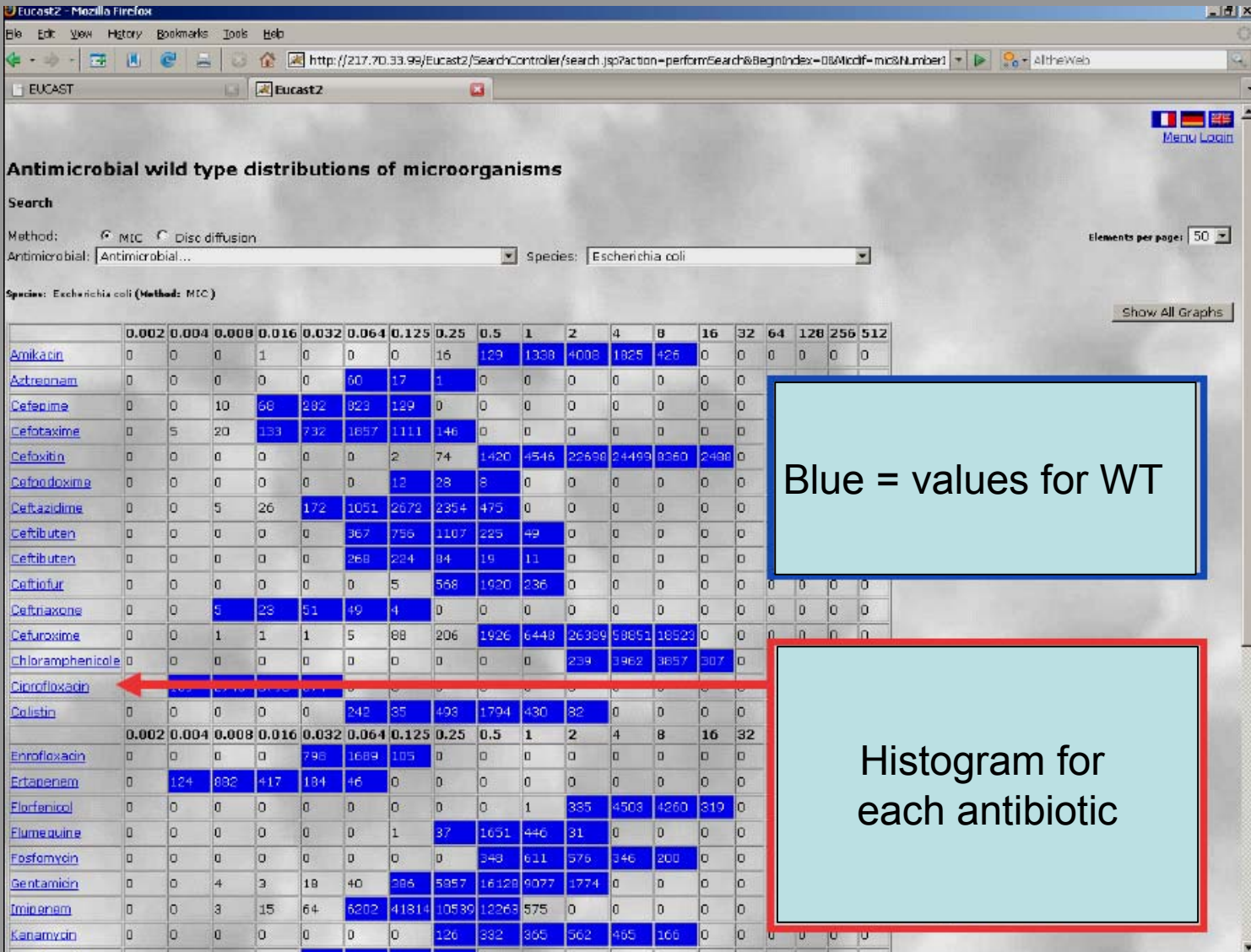
Epidemiological cut-off: WT ≤ 0.064 mg/L

C-O

37642 observations (32 data sources)

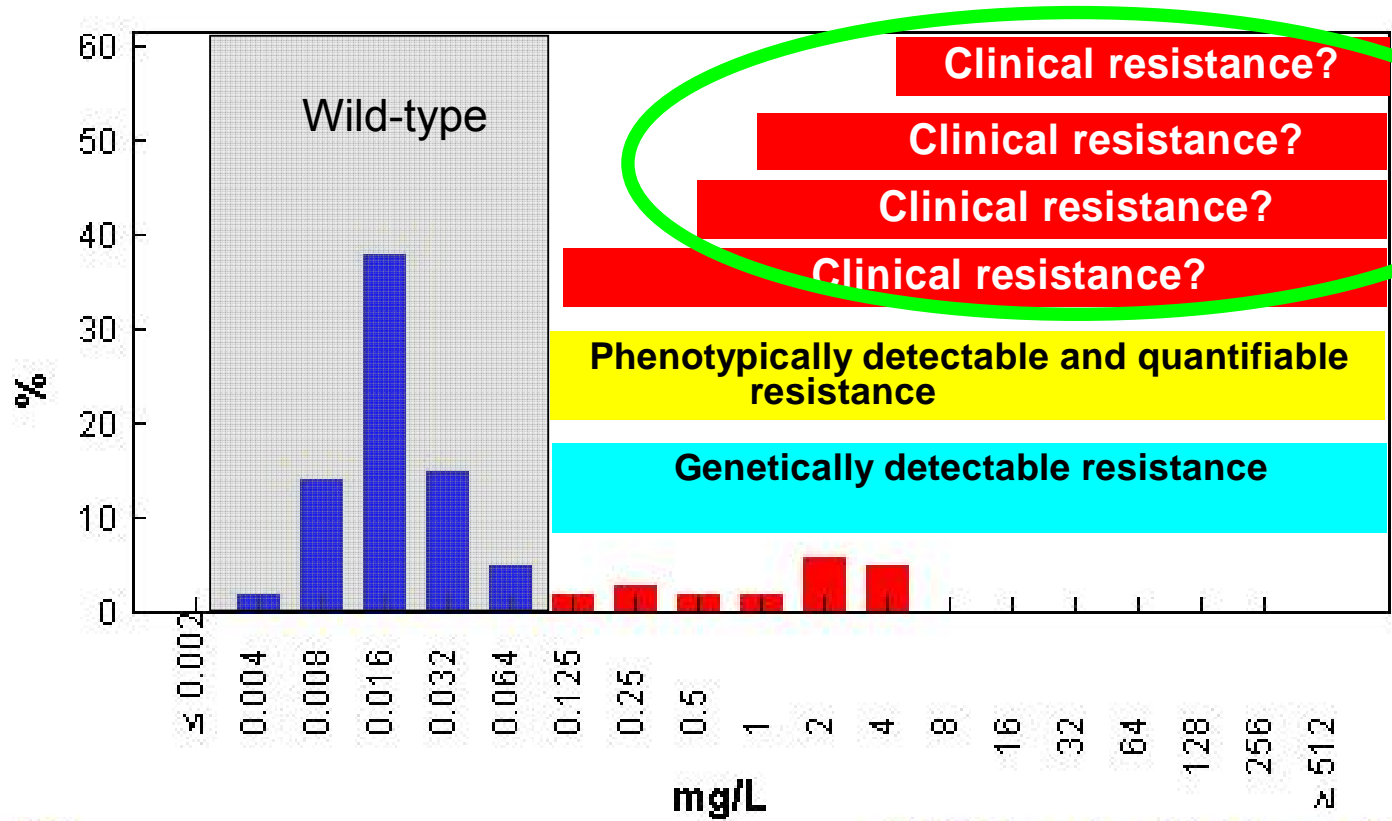
Clinical breakpoints: S ≤ 0.064 mg/L, R > 2 mg/L

Cut-offs



Breakpoints

Benzylpenicillin / *Streptococcus pneumoniae*
Antimicrobial wild type distributions of microorganisms - reference database
EUCAST MIC Distribution



MIC

Epidemiological cut-off: WT ≤ 0.064 mg/L

37642 observations (32 data sources)

Clinical breakpoints: S ≤ 0.064 mg/L, R > 2 mg/L

Concentrations critiques et diamètres

Enterobacteriaceae

EUCAST Clinical Breakpoint Table v. 1.0 2009-12-22

Carbapenems	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints Letters for comments on disk diffusion
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Doripenem	1	4	10	24	18	
Ertapenem	0.5	1	10	25	22	
Imipenem ¹	2	8	10	21	15	1. <i>Proteus</i> and <i>Morganella</i> species are considered poor targets for Imipenem.
Meropenem	2	8	10	22	16	

Rationnel expliqué

Enterobacteriaceae EUCAST Clinical Breakpoint Table v. 1.0 2009-12-22

Carbapenems	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints Letters for comments on disk diffusion
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Doripenem	1	4	16	24	18	
Ertapenem	0.5	1	16	22	22	
Imipenem ¹	2	8	16	21	15	¹ Proteus and Morganella species are considered poor targets for imipenem.
Meropenem	2	8	16	22	15	



6. Monte Carlo simulations and Pk/Pd breakpoints

Probabilities of Target Attainment (PTA) for 500 mg x 3 iv are shown in Figure 1.

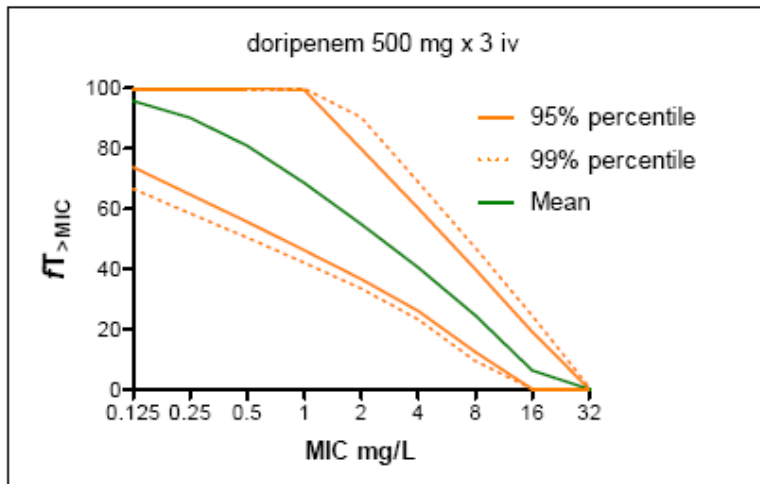


Figure 1. Probabilities of target attainment for doripenem 500 mg x 3 iv.

The following pharmacokinetic parameters were used to obtain the PTA:
 Volume of distribution (Vd): 18 L, CV 20%
 Elimination half-life (t): 1.05 h, CV 20%
 Fraction unbound (Fu): 92 %
 Infusion time: 1.0 h

EUCAST et antibiotiques

- Aminoglycosides ✓
- Carbapenems & aztreonam ✓
- Cephalosporins iv ✓
- Cephalosporins oral (finalised May 2009)
- Fluoroquinolones ✓
- Glycopeptides ✓
- Macrolides and lincosamides ✓
- Penicillins ✓
- Tetracyclines ✓
- Miscellaneous antimicrobials ✓

- Antifungal drugs (flu- and voriconazole) ✓

EUCAST

breakpoint committee for new drugs through European Medicines Agency (EMA)

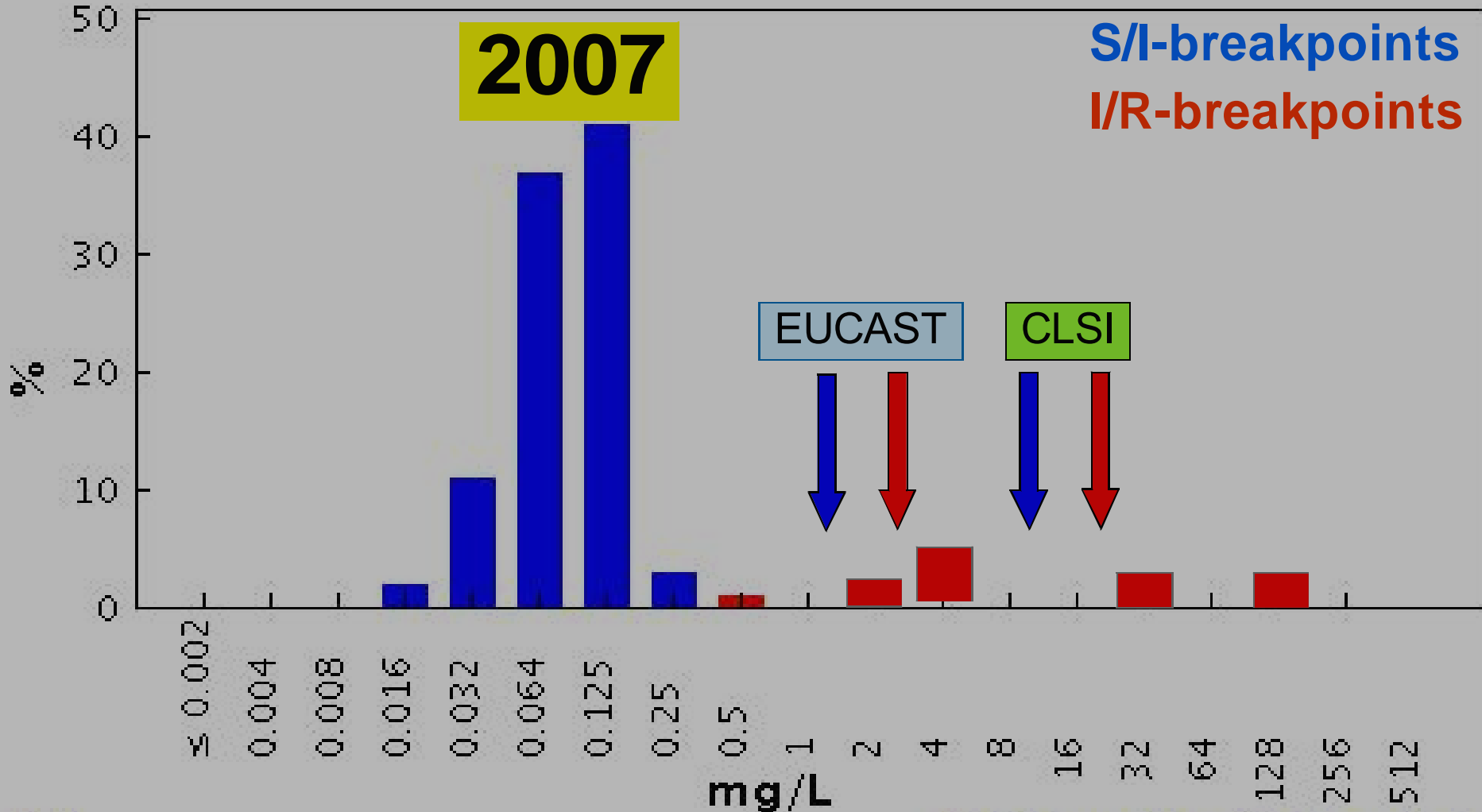
- Daptomycin ✓
- Tigecycline ✓
- Garenoxacin (✓)
- Doripenem ✓
- New cephalosporin (ongoing)
- Glycopeptides (3 ongoing)
- Fluoroquinolone (1 ongoing)
- Diaminopyrimidine (1 ongoing)

- Extensions of indications

Cefotaxime / Escherichia coli

Antimicrobial wild type distributions of microorganisms - reference database

EUCAST



MIC
Epidemiological cut-off: WT ≤ 0.25 mg/L

6290 observations (12 data sources)
Clinical breakpoints: S ≤ - mg/L, R > - mg/L

Concentrations critiques EUCAST et CLSI sont différents!

Group of organisms	No. of break-points	Same breakpoint (s) for		
		S and R	S	R
Enterobacteriaceae	36	0	3	3
<i>Pseudomonas</i>	18	1 (imi)	5	2
<i>Acinetobacter</i>	11	1 (col)	4	2
Staphylococci	31	4	5	2
Enterococci	14	0	2	3
Streptococci	25	2	5	2
<i>S. pneumoniae</i>	29	3	1	5
<i>H. influenzae</i>	27	0	3	0

Et le CA-SFM?

- L'introduction successive des concentrations critiques EUCAST a notablement modifié les communiqués au fur et à mesure des années
- Des ajustements seront peut-être encore nécessaires

Entérobactéries CA-SFM

Antibiotique	CA-SFM 2003 S≤/R> (mg/L)	CA-SFM 2010 (mg/L)
Ampicilline	4/16	4 / 8
Céfotaxime	4/ 32	1 / 2
Ceftazidime	4 / 32	1 / 8
Imi-/Méropénème	4 / 8	2 / 8
Ciprofloxacine	1 / 2	0,5 / 1
Gentamicine/Tobra	4/ 8	4 / 8
Amikacine	8 / 16	16 / 32

Staphylococcus spp

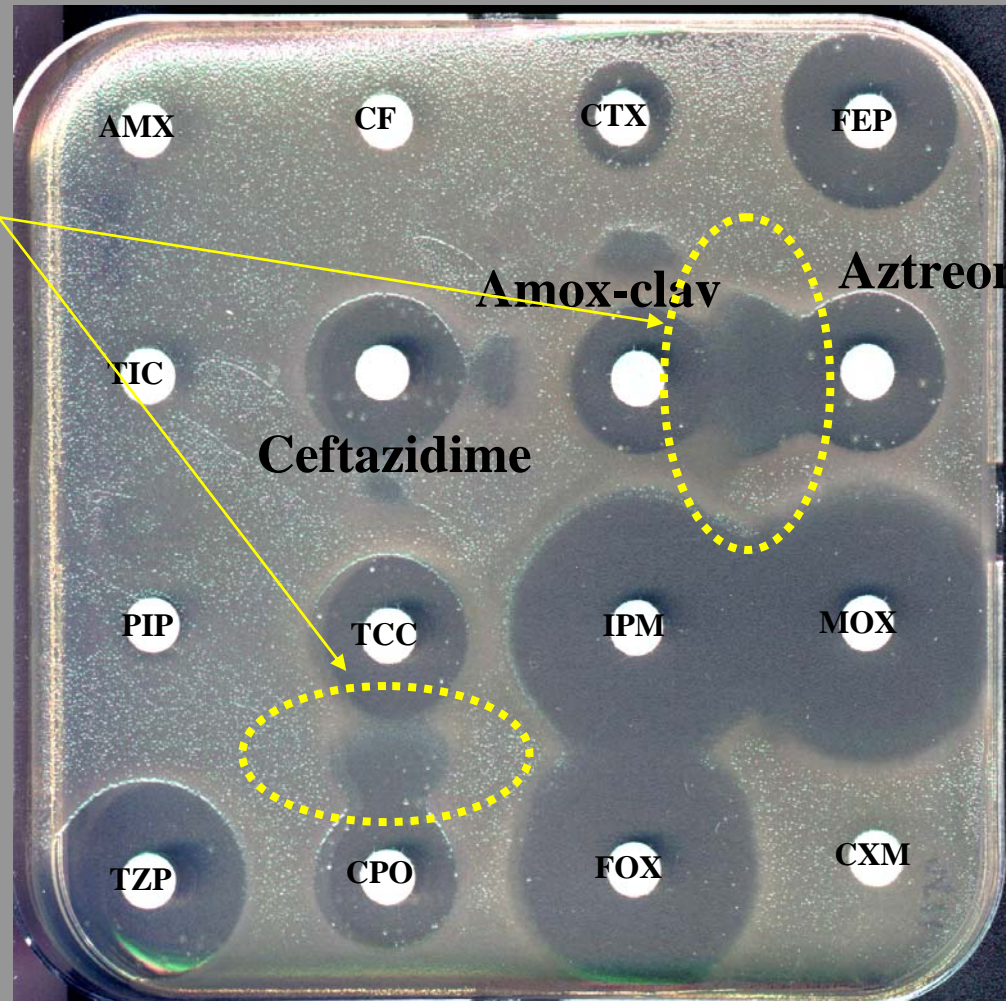
Antibiotique	CA-SFM 2003 S≤/R> (mg/L)	CA-SFM 2010
Ofloxacin	1 / 4	1 / 1
Erythromycine	1 / 4	1 / 2
Lincomycine	2 / 8	2 / 8
Genta/Tobramycine	4 / 8	1 / 1
Vancomycine	4 / 16	4 / 8 (2/2?)

Entérobactéries et BLSE?

- Les concentrations critiques ont beaucoup baissé (4/32 à 1/2 pour le céfotaxime)
- Cet abaissement est-il suffisant pour garantir une forte probabilité de succès thérapeutique en cas d'infection par entérobactérie BLSE?

E. coli CTX-M-15

Synergie entre
C3G/aztreonam
et acide clavulanique



CMI des β -lactamines pour diverses BLSE

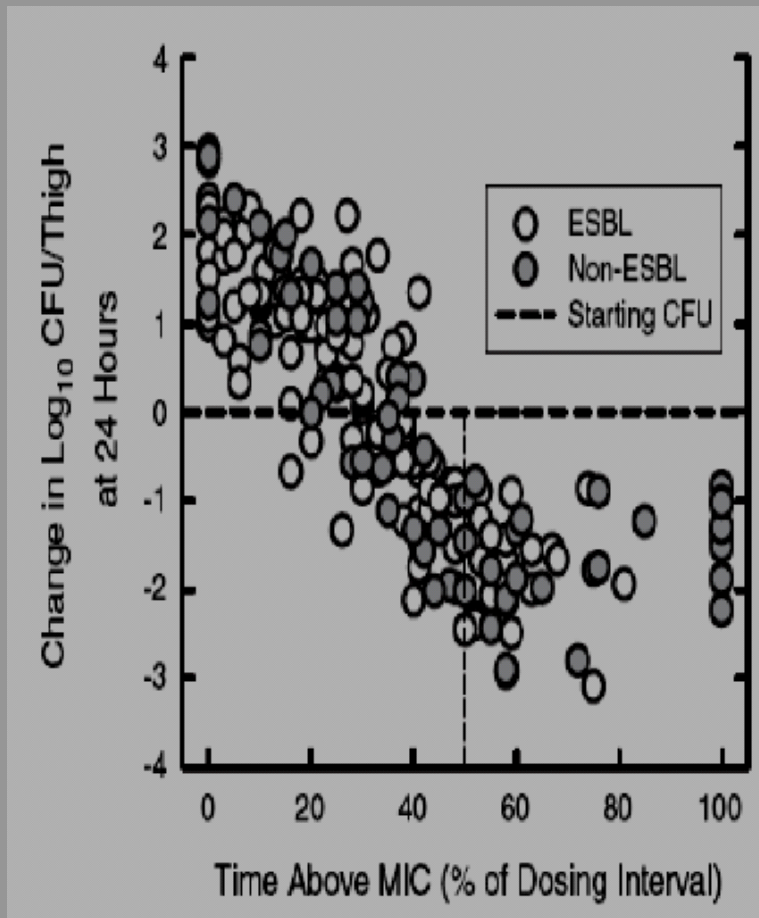
BLSE	CMI (mg/L)			
	Céfotaxime	Ceftazidime	Céfépime	Aztréonam
CTX-M-1	64	0.5	16	16
CTX-M-15	256	128	32	128
CTX-M-16	16	8	2 (2)	8
TEM-3	2 (2)	8	0.5	1
SHV-2	1	8	0.5	0.5

R, I, S

Quelle approche a conduit à
fixer des concentrations
critiques basses?

Le mécanisme de résistance
change-t-il quelque chose
(ESBL+ ou -)?

Modèle d'infection de la cuisse chez la souris pour l'évaluation de l'activité des C3G selon la CMI



Le % T>CMI est prédictif de l'activité des céphalosp. 3ème-4ème génération contre les EB ESBL+ ou ESBL-

La CMI d'une β -lactamine pour une bactérie BLSE+ peut-être utilisée pour prédire l'issue clinique selon les modèles PK/PD

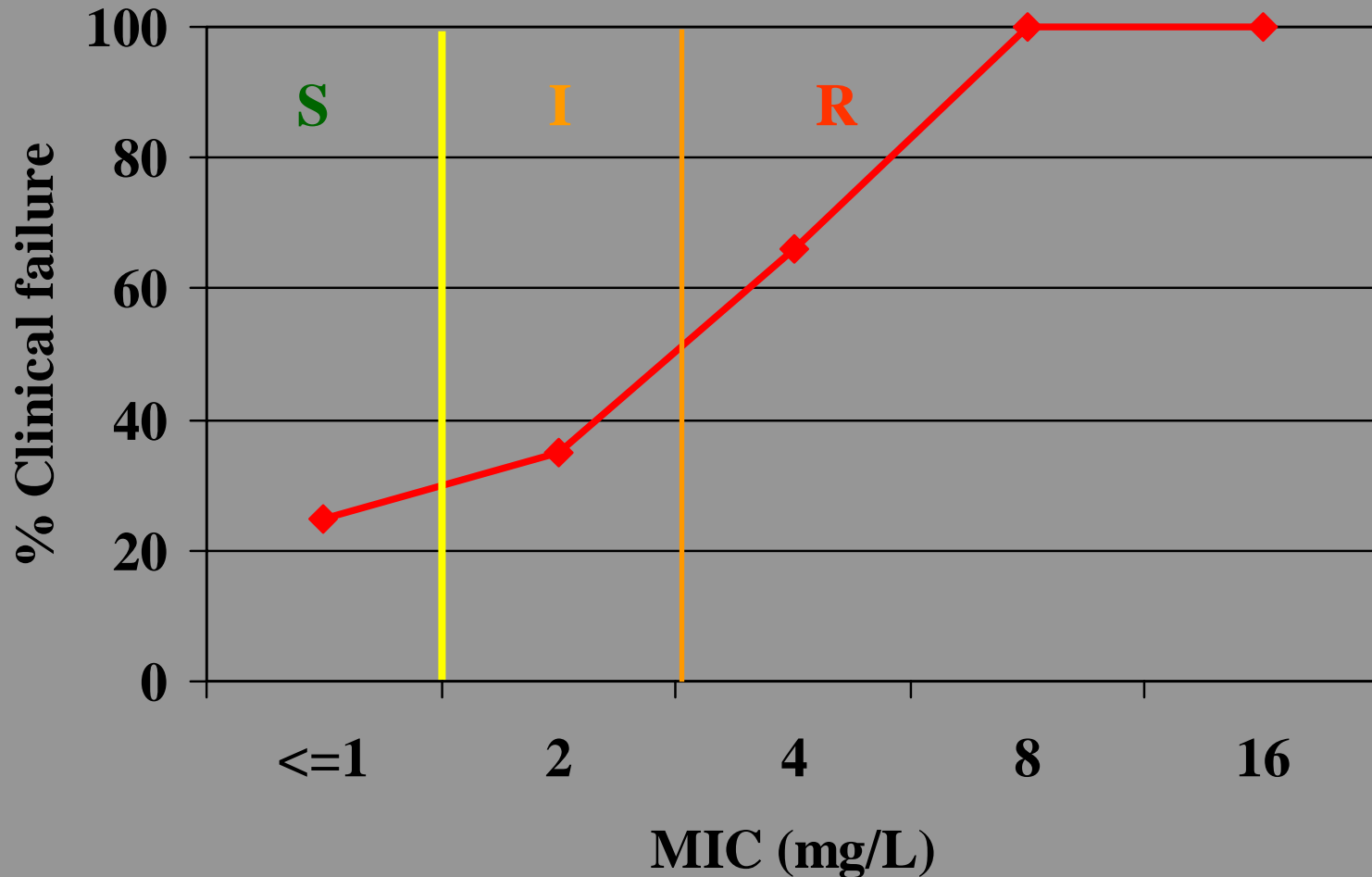
Monte-Carlo simulations and target attainment rates (TAR) for intravenous ceftriaxone 2 g every 24 h

MIC (mg/L)	TAR at T>MIC rates of				
	20%	30%	40%	50%	60%
0.25	100	100	97	55	6
0.5	100	100	72	9	0
1.0	100	90	16	0	0
2.0	99	29	1.0	0	0
4.0	54	0	0	0	0

EUCAST Breakpoints

TAR at T>MIC (30% for ceftriaxone) for a static to one log pathogen kill at 24 h is taken to be most predictive of outcomes in humans

Echecs cliniques avec les céphalosporines de 3ème génération contre les bactéries productrices de BLSE



Règle d'interprétation BLSE

- Peu de preuves qui supportent cette règle
- Les résultats *in vitro*, expérimentaux et cliniques suggèrent plutôt: « rapporter comme trouvé ». Mais peu de data cliniques (rétrospectif)
- Sommes nous prêts à abandonner l'interprétation pour les ESBL?

. Révision EUCAST prévue de la règle (« report as found »)

(Attention: la détection de BLSE est nécessaire pour le contrôle des épidémies)

Diffusion en gélose technique EUCAST

- Mueller Hinton
- Inoculum 0.5 McF
- Incubation 18 +/-2 h
- MH+5% sang de cheval et 20 mg β -NAD pour streptocoques, pneumocoques et *H. influenzae*
- Charge disques
- Souches de contrôle qualité (CMI et diamètres de référence)

CA-SFM et EUCAST

- L'EUCAST vit des et par les comités nationaux; leur maintien et développement est indispensable
- Processus de consultation mutuelle, de discussion avant approbation finale
- Particularités françaises (pristinamycine)
- Automates: passage à l'EUCAST en cours
- Diffusion: technique EUCAST plus simple mais expérience française ancienne....

Avant



Après



www.eucast.org

Uderzo, Eds Dupuis

Expert rules

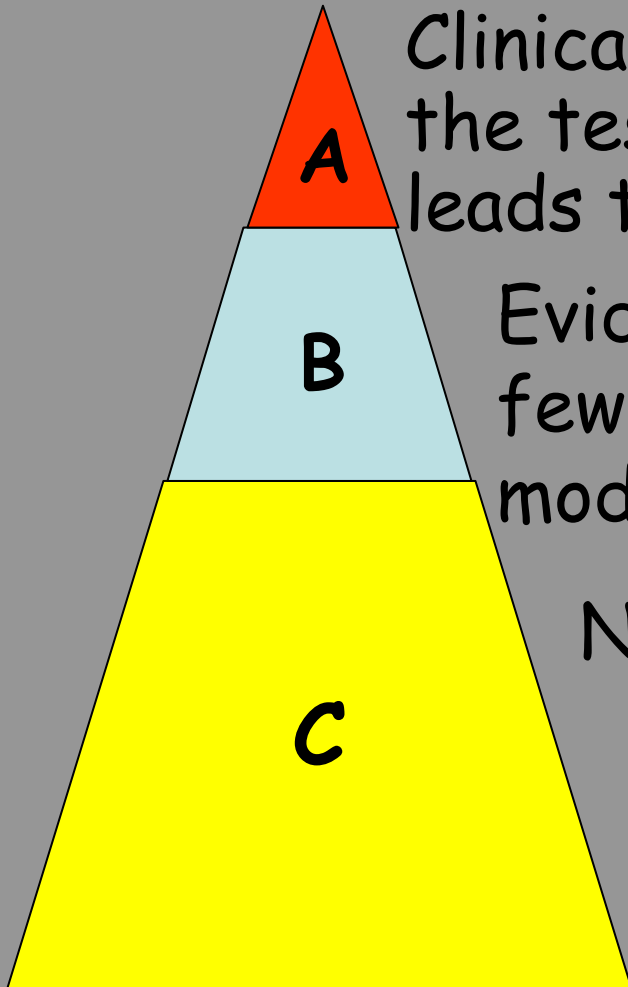
Expert rules V1 (V2 très bientôt..)

- Résistances intrinsèques
- Phénotypes exceptionnels (surtout résistance)
- Lecture interprétative

Les règles d'expertise doivent être basées sur des preuves

- Si un résultat « S » est changé indûment en « I » or « R »
 - moins d'antibiotiques disponibles (perte de chance pour le patient)
 - Inversement, rendre S alors que la probabilité de succès thérapeutique est faible:
 - perte de chance pour le patient
- Elles doivent être basées sur des preuves microbiologiques, expérimentales, cliniques)
- Les preuves doivent être publiées et la qualité de la preuve évaluée

Niveaux de preuve



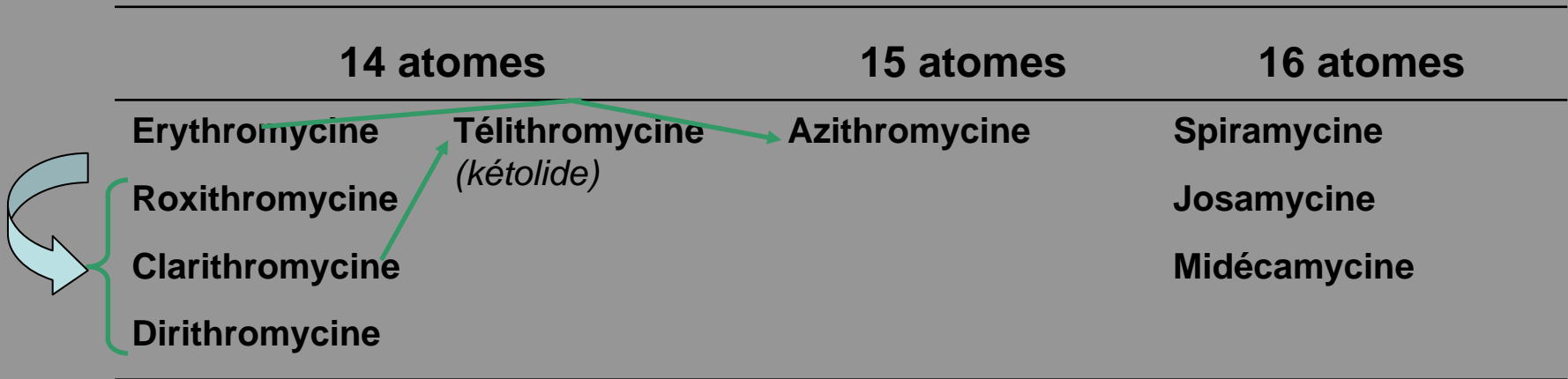
Clinical evidence that reporting the test result as susceptible leads to clinical failures.

Evidence is weak and based only on a few case reports or on experimental models

No clinical evidence, but microbiological data suggest that clinical use of the agent should be discouraged

Macrolides

14 atomes	15 atomes	16 atomes
Erythromycine	Télithromycine (kétolide)	Spiramycine
Roxithromycine	Azithromycine	Josamycine
Clarithromycine		Midécamycine
Dirithromycine		



Lincosamides

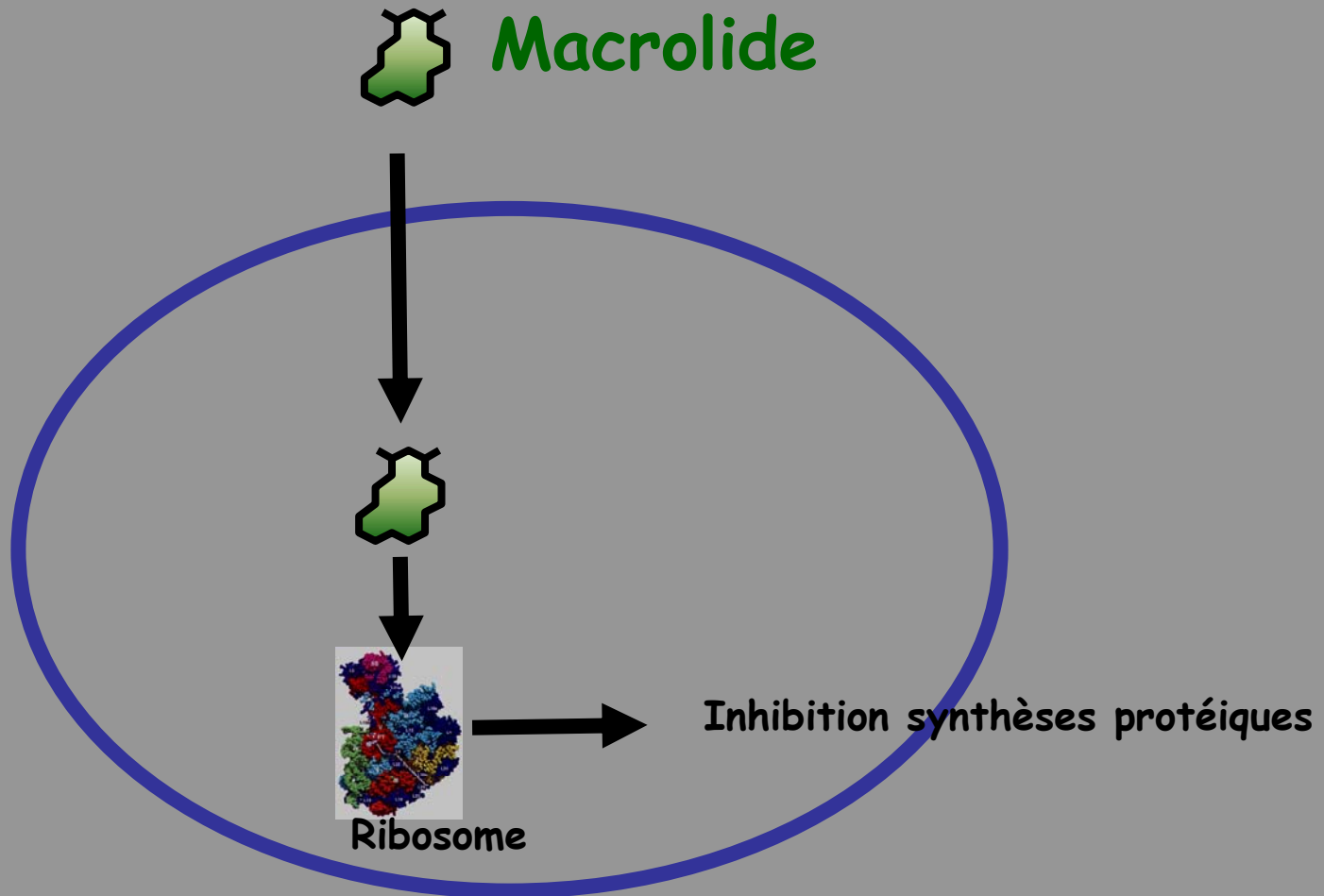
Clindamycine et lincomycine

Streptogramins

Facteur A: pristinamycine II, dalfopriline

Facteur B: pristinamycine I, quinupriline

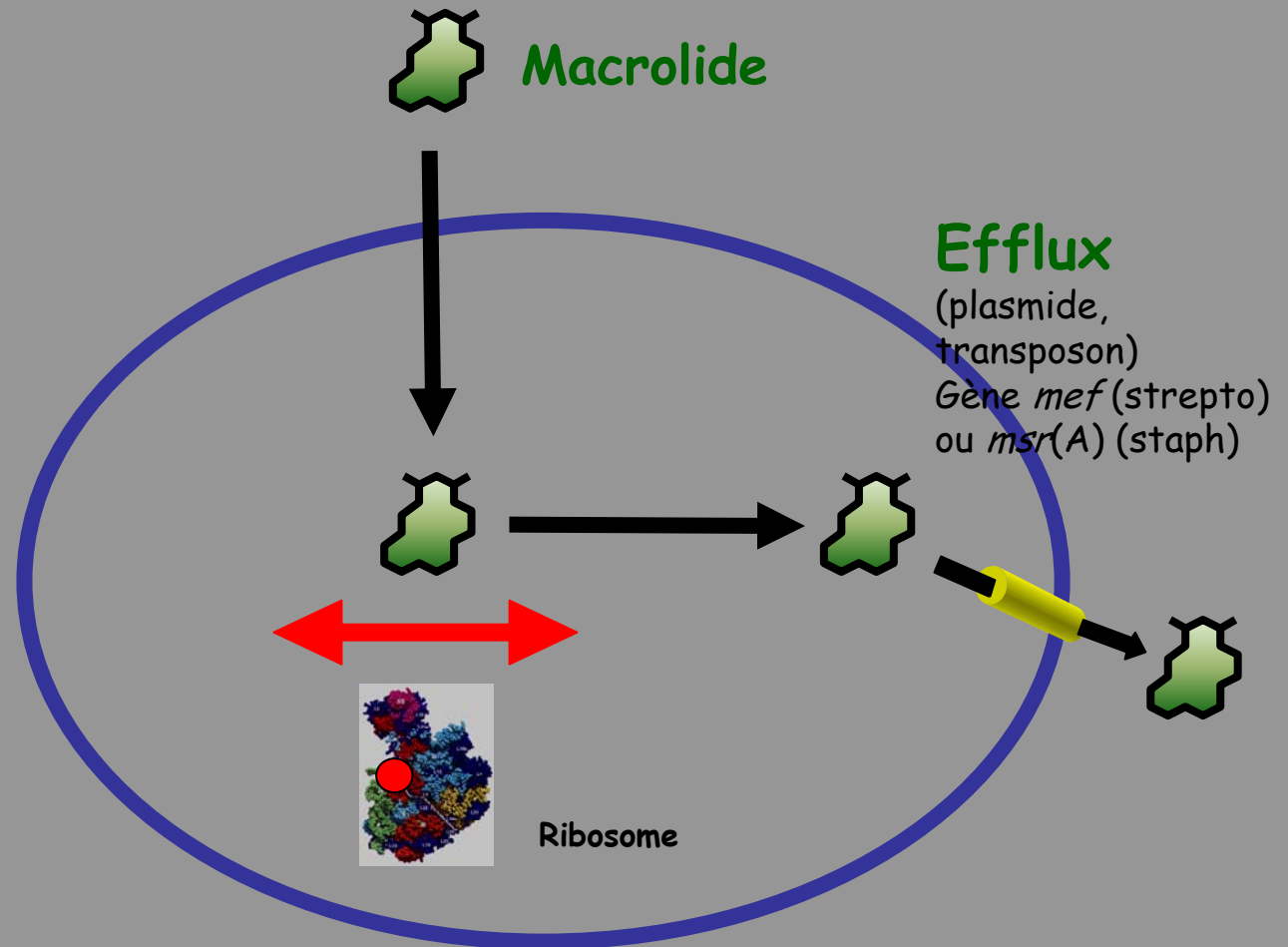
Macrolides; inhibiteurs de la synthèse protéique



Mécanismes de résistance aux macrolides chez les coques à Gram positif

Modification du ribosome

- Méthylation (gène *erm*) (plasmide, transposon)
- Mutation (chromosome)



Quels antibiotiques tester?

Erythromycine

CA-SFM

Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine. Interprétation valable pour josamycine et midécamycine.
Spiramycine	100 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	

EUCAST

Rule no.	Organisms	Agent	Rule
11.1	All	Erythromycin	Erythromycin is the class representative for 14- and 15-membered ring macrolides.

CMI des macrolides contre *S. pneumoniae* selon le type de résistance

	MIC (mg/L)					
	MLS _B or <i>erm</i> (B)			M or <i>mef</i> (A)		
	range	MIC50	MIC90	range	MIC50	MIC90
Azithromycin	8->128	>128	>128	2-32	16	16
Clarithromycin	2->128	>128	>128	1-64	8	8
Erythromycin	8->128	>128	>128	1-64	8	8
Roxithromycin	2->128	>128	>128	1-32	8	8
Josamycin	0.5->128	16	>128	0.03-0.025	0.06	0.12
Miocamycin	4->16	2-16	>128	0.25-0.5	-	-
Spiramycin	16->128	8-128	>128	0.06-1	0.25	0.5

Descheemaker (agar CO₂), Fitoussi (agar), Ip (agar), Montanari (NCCLS broth microdil), Nishijima (agar)

Phénotypes MLSB inductible et constitutifs chez les staphylocoques

	Erythro. Azithro.	Josa. Spira.	Clinda.	Pristinamycine Quinu-Dalfopristine		
				SgB	SgA	SgA+SgB
Sensible	S	S	S	S	S	S
MLSB inductible	R	S	S	S	S	S
MLSB constitutif	R	R	R	R	S	S

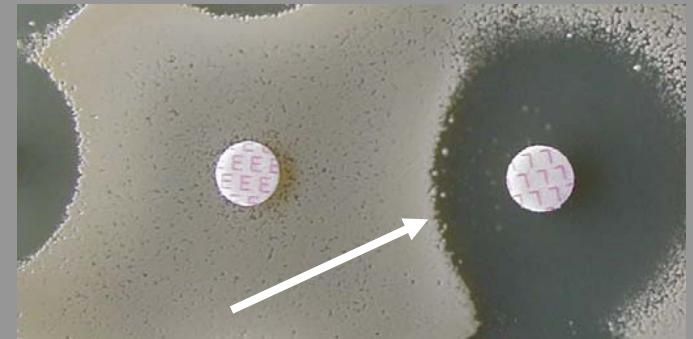
Phénotypes de résistance MLS chez staphylocoque



Sensible



MLSb inducible

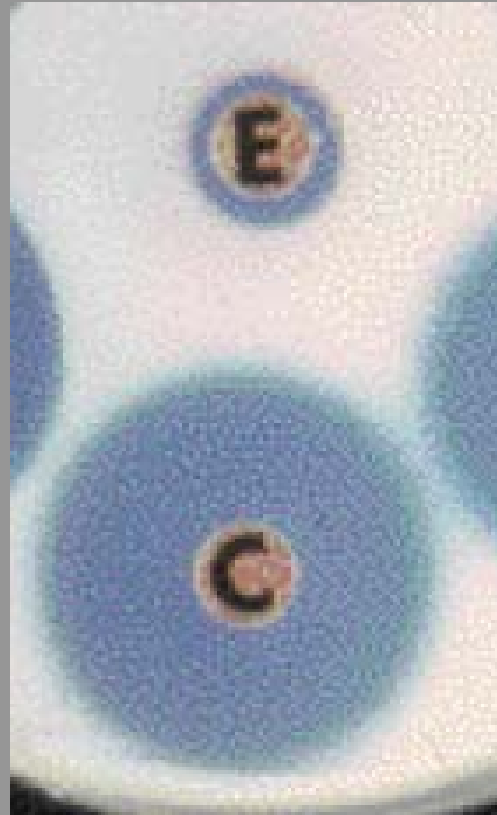


MLSb constitutif

In vitro: sélection des clinda-R avec une fréquence de l'ordre de 10^{-7} :

→ Le risque de sélection existe pour les infections à fort inoculum (médiastinite ++, poumon ?)

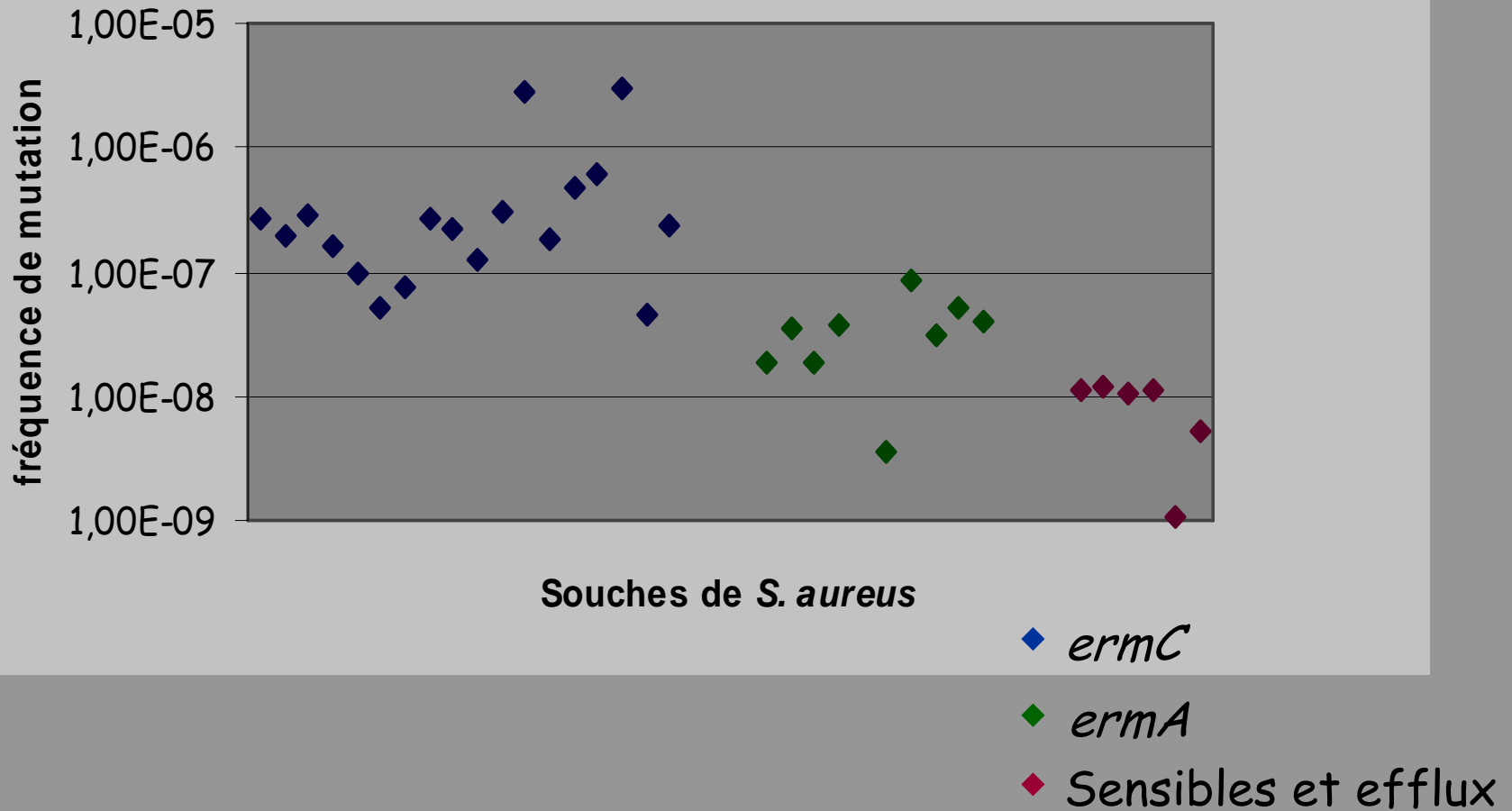
Phénotype efflux (M) [gène *msr(A)*]



M

Risque de sélection de mutants par la clindamycine négligeable

Fréquence de mutation à la clindamycine



Résistants MLS_B inductibles : échec de la clindamycine

Nb de patients traités par clindamycine	Nb d'échecs	Nb de MLS_B constitutifs sélectionnés	Reference
3	2	1/3	Rao (2000)
2	2	2/2	McGehee (1968)
3	1	1/3	Drinkovic (2002)
2	2	1/2	Frank (2001)
1	1	1/1	Siberry (2003)
1	1	1/1	Levin (2005)
12	9	7/12	

Grade B

Interprétation

Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à lincomycine et clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance (antagonisme érythromycine-lincomycine). En l'absence d'induction, répondre sensible à la lincomycine et clindamycine. En présence d'induction, répondre sensible à lincomycine et clindamycine avec le message suivant : de rares échecs cliniques ont été rapportés par sélection de mutants constitutifs résistants.

If resistant to erythromycin but susceptible to clindamycin or lincomycin, test for inducible MLS_B resistance. If negative, report susceptible to clindamycin and lincomycin. If positive, either report as resistant to clindamycin and lincomycin or report as susceptible with a warning: "Clinical failure during treatment with clindamycin or lincomycin may occur by selection of constitutively resistant mutants". The use of clindamycin/ lincomycin is probably best avoided in severe infections.

CA-SFM

EUCAST

Comment tester l'induction?

- Méthode des disques: rapprocher disques d'érythromycine et de lincomycine/clindamycine
- Automates?

Test d'induction en automate (test ICR VITEK2 bioMérieux)

Souches étudiées: collection + isolats de routine

	No. isolates with						Other mechanism
	No resistance gene	<i>erm(A)</i>		<i>erm(C)</i>		<i>msr(A)</i>	
		Constitutive	Inducible	Constitutive	Inducible		
Collection and reference strains	0	5	10	4	18	3	0
Routine isolates	25	13	8	0	15	17	1 *

* Isolat clinique sans image d'induction: mutant ribosomal

Résultats et conclusion

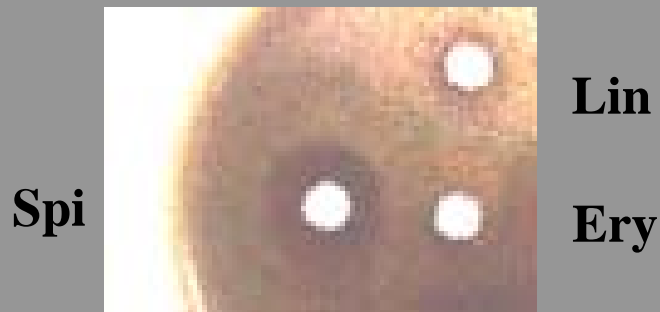
238 tests

- Sensibilité 97%, spécificité 100%, VPP 100%, VPN 89,5%
- Trois isolats avec un gène inductible *erm(A)* : tests ICR faussement négatifs (CMI VITEK2 0,5 mg/l).
- Sept isolats avec un gène *erm(A)*: initialement testés "S", (CMI de E = 1 mg/l), trouvés R inductibles par le test.
 - Alternative au test par diffusion
 - permet de détecter des résistances d'expression faible ou tardive
 - Test inclus sur les galeries

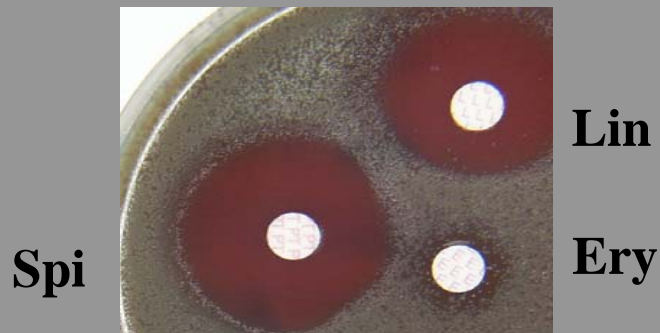
Phénotypes MLS_B chez les pneumocoques [*erm(B)*, *ermTR*]



Inductible ou constitutif

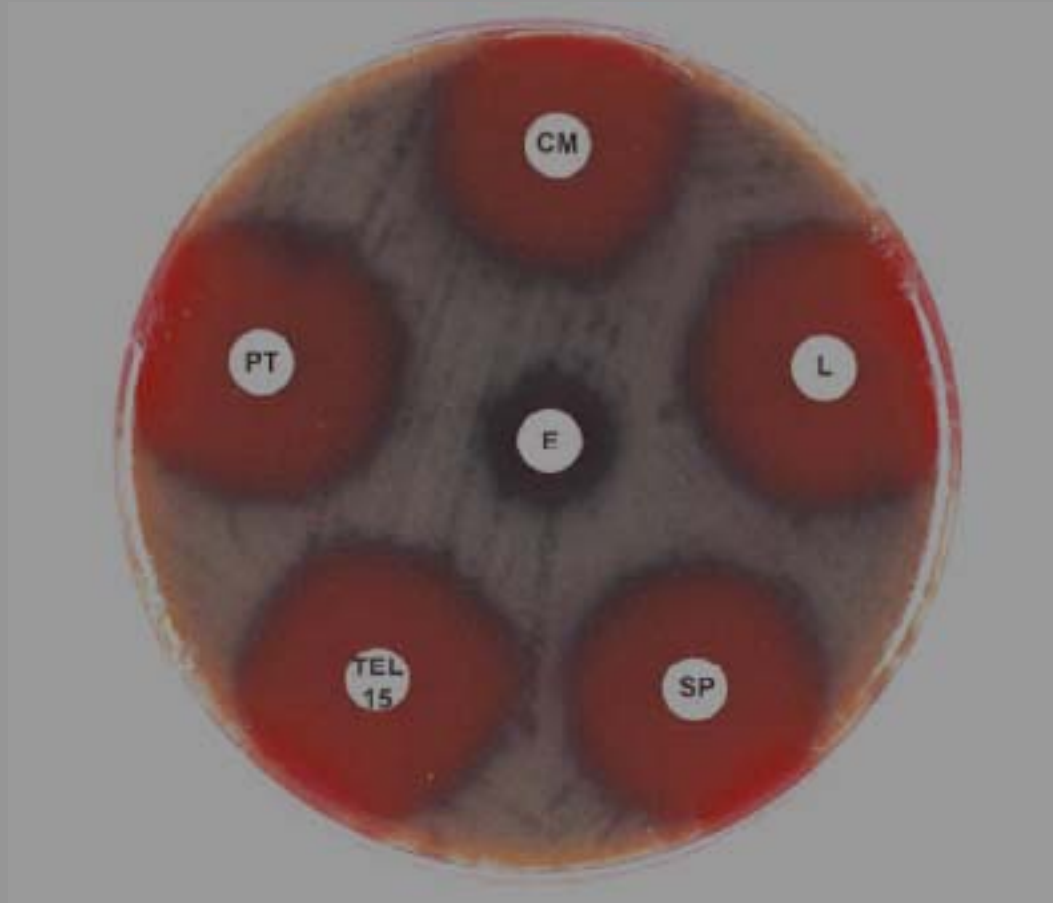


Inductible



Inductible

Efflux [*mef(A)* ou E]



Interprétation

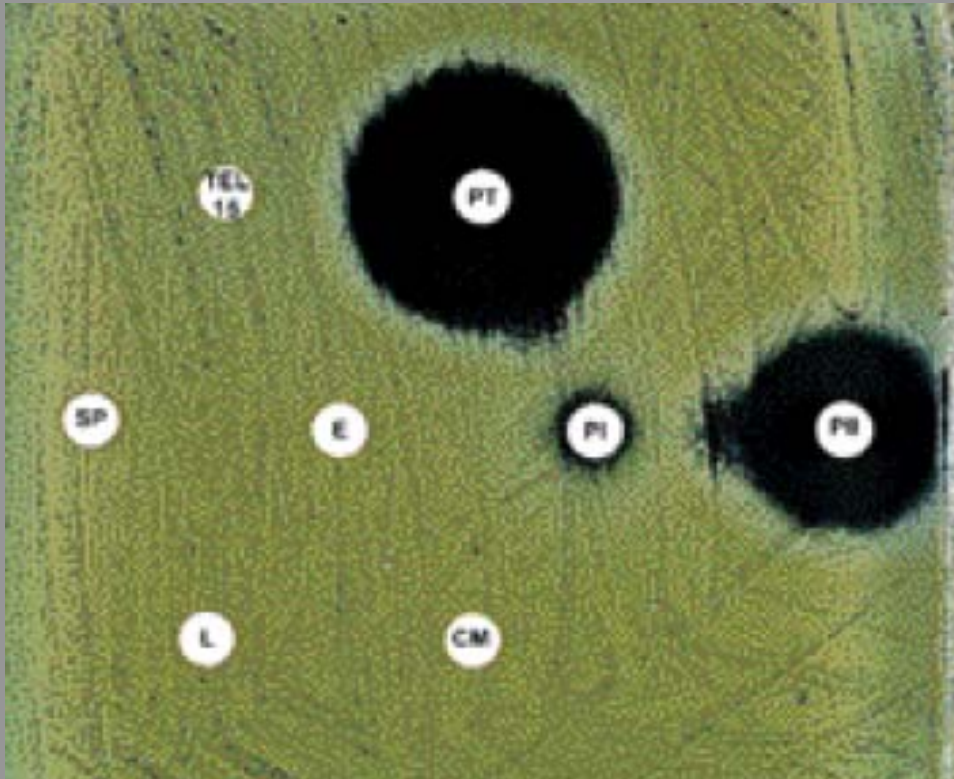
Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à lincomycine ou clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance (antagonisme érythromycine-lincomycine). En l'absence d'induction, répondre sensible à la lincomycine et clindamycine. En présence d'induction, répondre résistante à lincomycine et clindamycine

CA-SFM

If resistant to erythromycin but susceptible to clindamycin or lincomycin, test for inducible MLS_B resistance. If negative, report susceptible to clindamycin and lincomycin. If positive, report resistant to clindamycin and lincomycin.

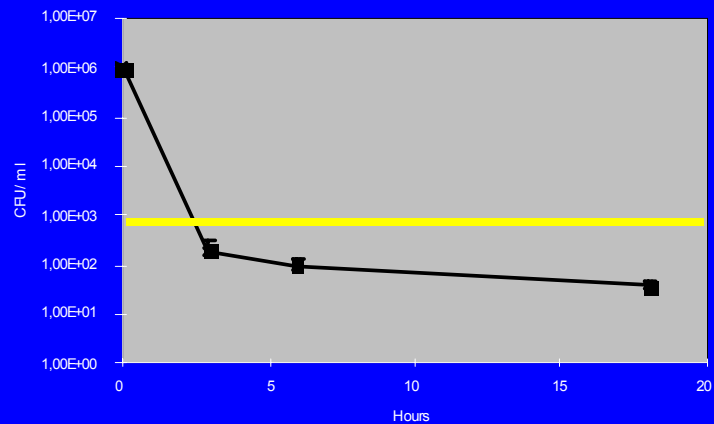
EUCAST

Les streptogramines sont-elles actives contre les staphylocoques MLSb constitutif?

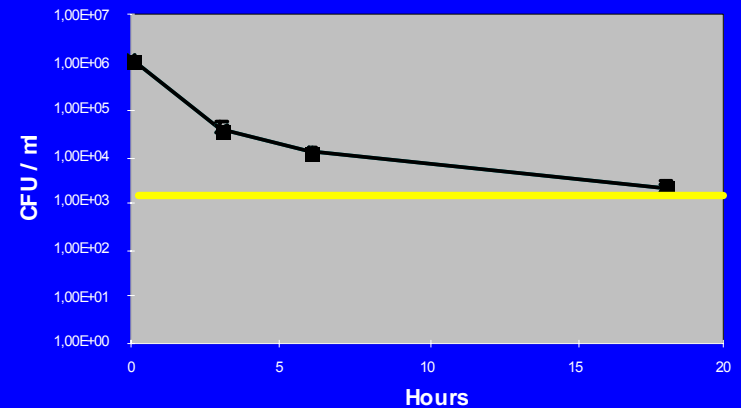


Activité bactéricide de quinupristine-dalfopristine vis-à-vis de *S. aureus* contenant ou non *ermA*

S. aureus RN4220/pAT392

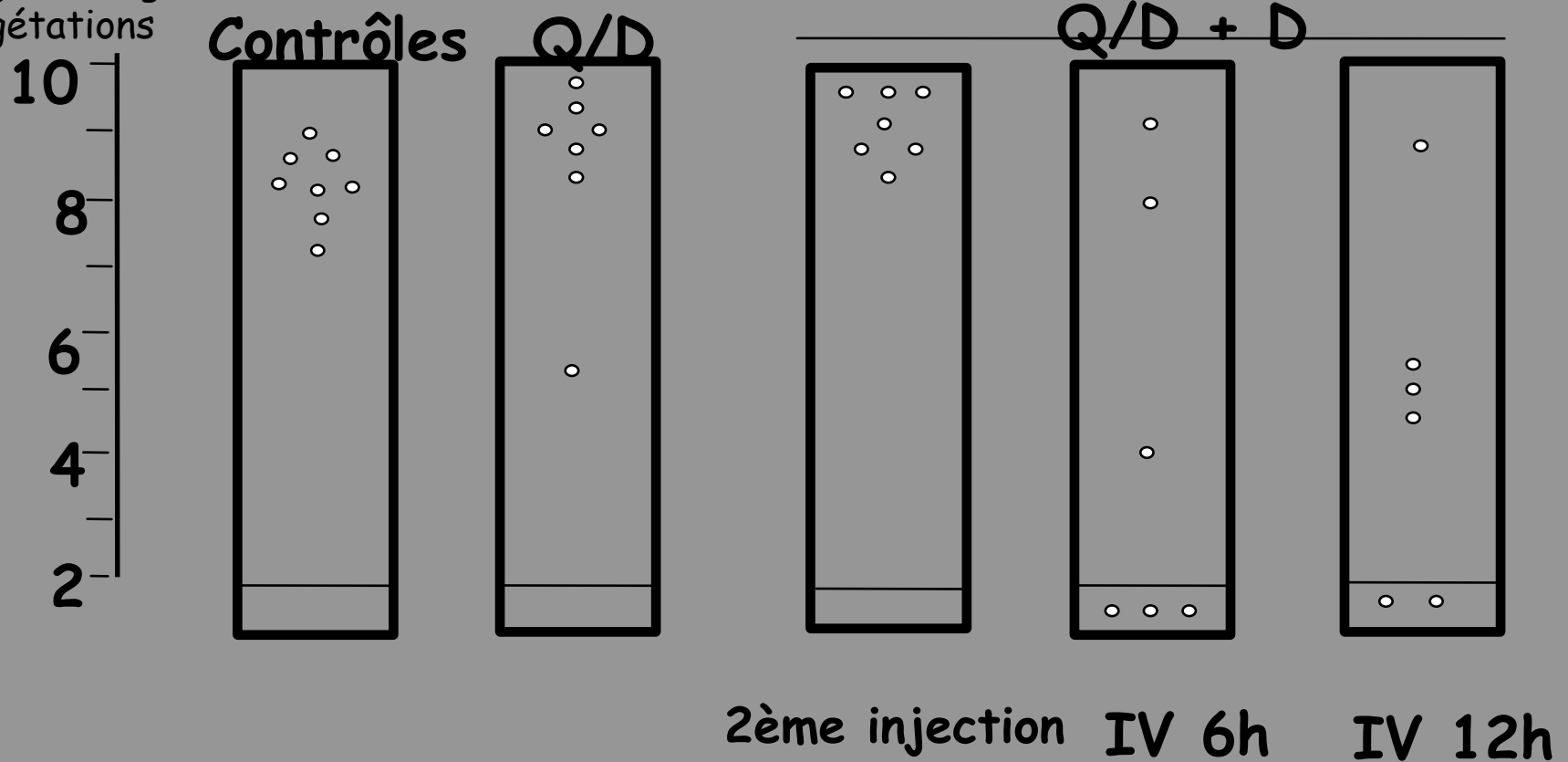


S. aureus RN4220/pAT392/*ermA*



Influence de la résistance aux streptogramines B sur l'activité de quinupristine/dalfopriline in vivo

Log10 ufc/g de végétations



JM Entenza, H Drugeon, MP Glauser, P Moreillon,
Antimicrob Agents Chemother, 1995

Interprétation

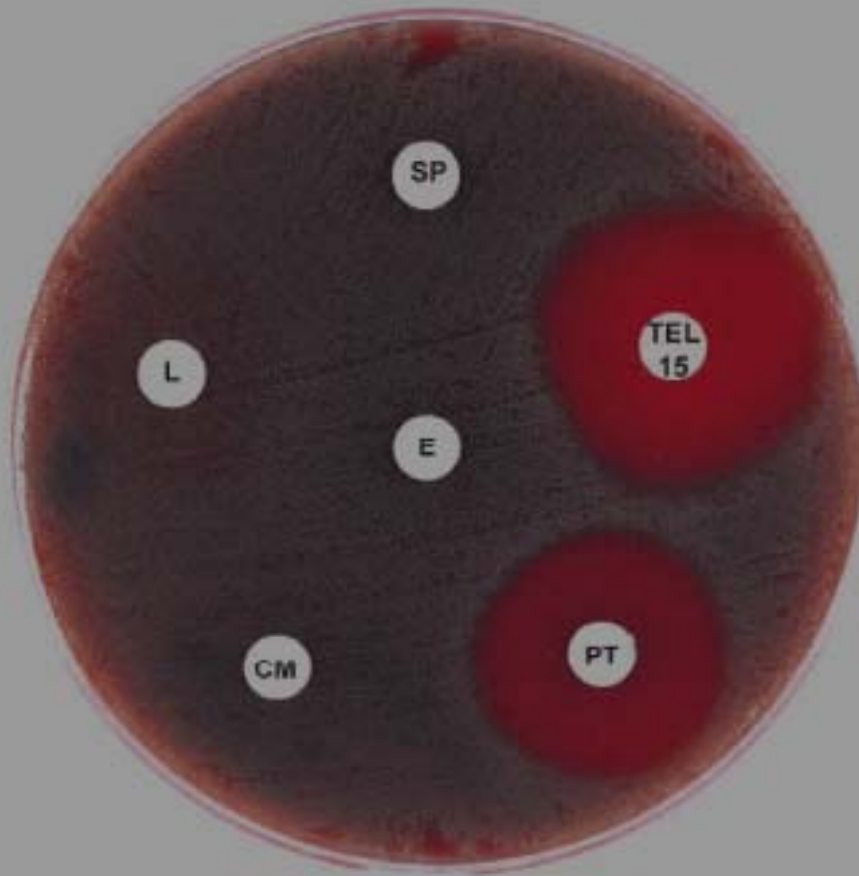
En cas de résistance à la clindamycine, les activités de la pristinamycine et de l'association quinupristine-dalfopristine sont diminuées.

CA-SFM

If resistant to clindamycin,
report a warning that
bactericidal activity of
quinupristin-dalfopristin is
reduced.

EUCAST

Pristinamycine et pneumocoque MLSB

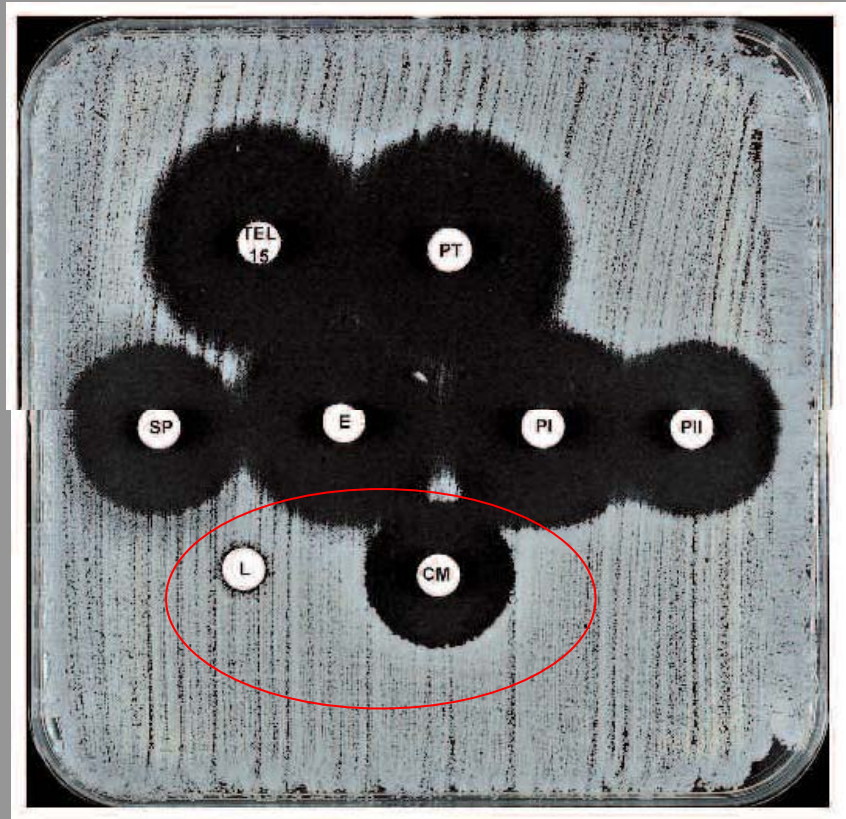


Activité bactéricide
de la pristinamycine
conservée (pas de
règle d'expertise)

Ce qui n'est pas dans les
règles d'expertise...

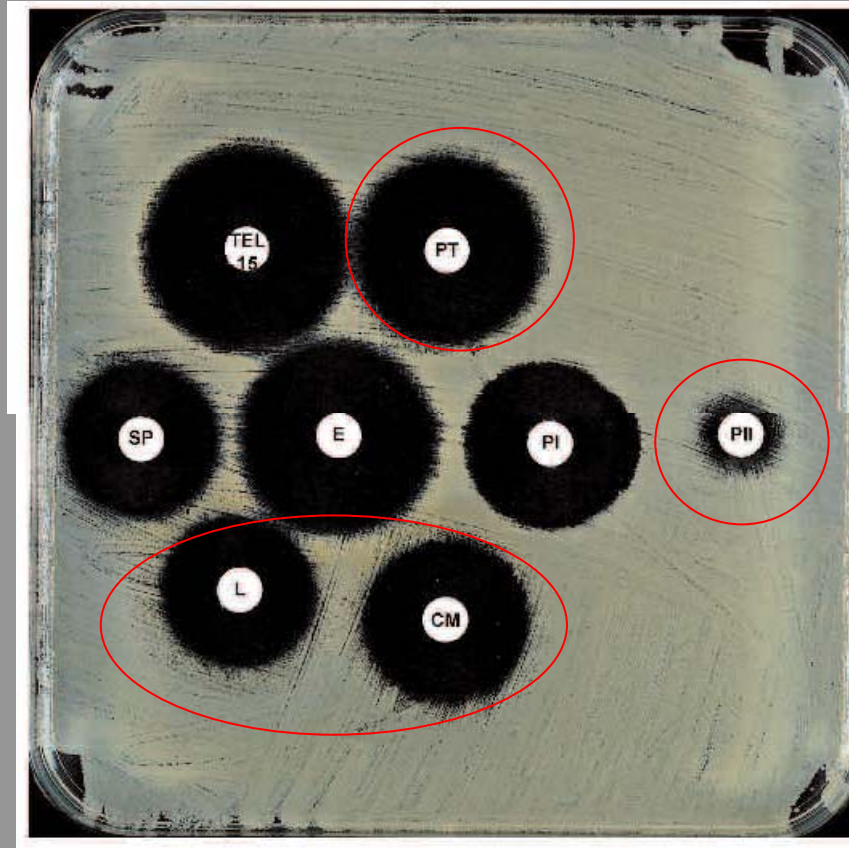
(moutons multimembrés ou absence de
data)

Phénotype L



Nucléotidylation de lincomycine et clindamycine: Lin R, Cli S
(augmentation CMI 1-2 dilutions)

Phénotype LSA

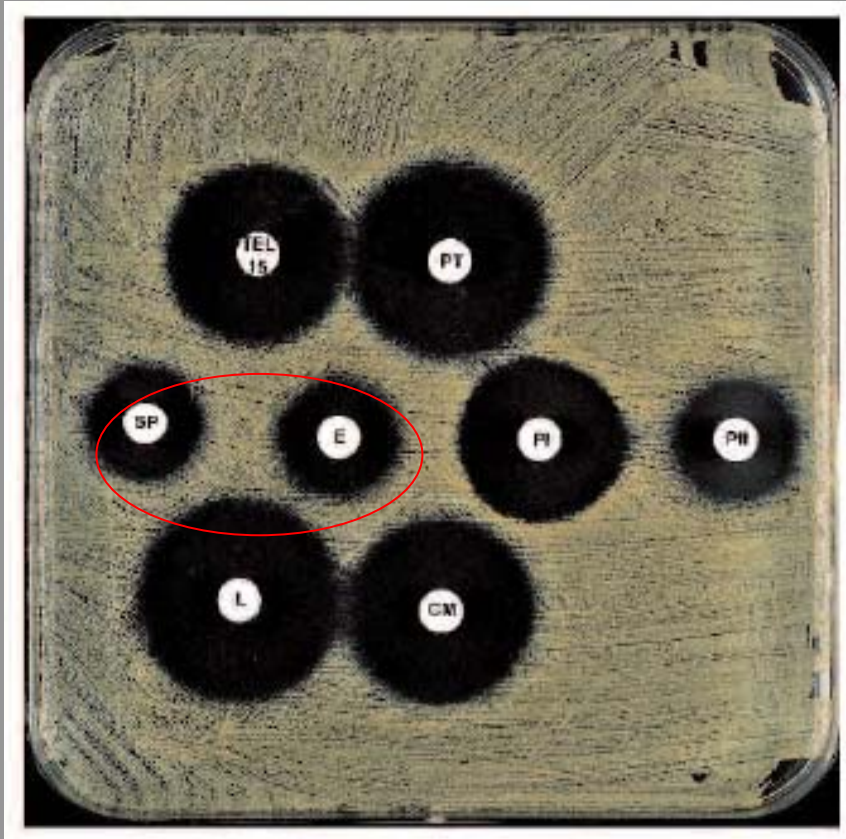


Efflux (*vga*) + mécanismes inconnus

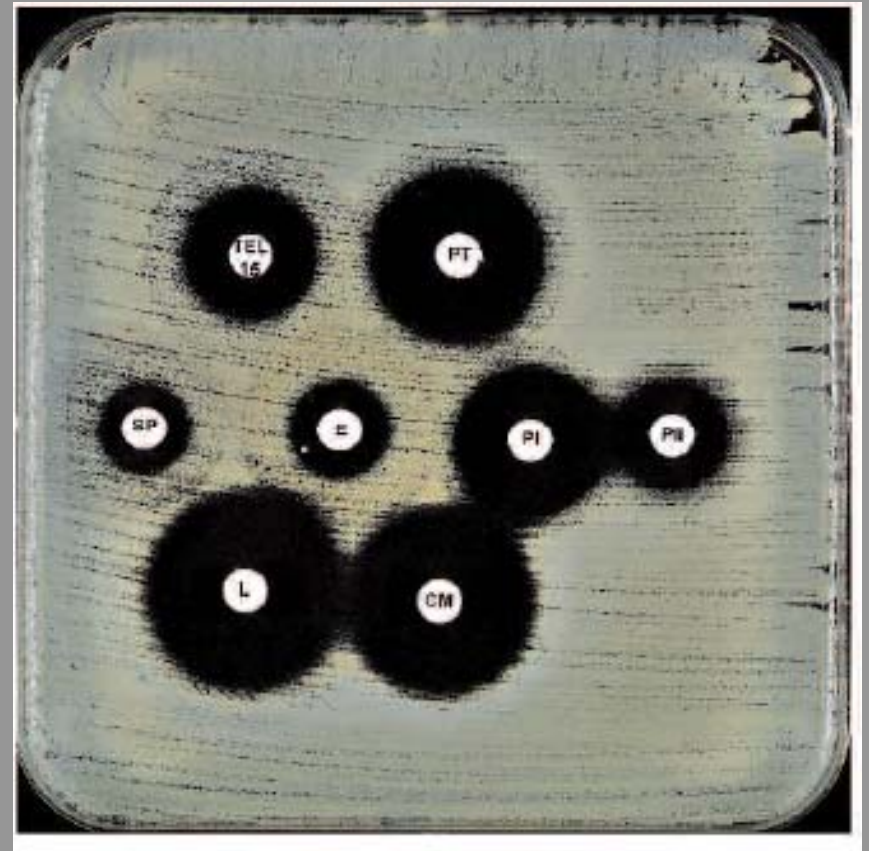
Modèle d'endocardite expérimentale du lapin

(Zarrouk, V., et al Antimicrob. Agents Chemother. 44:1168- 1173.)

Mutants ribosomaux



Mutant L4: « efflux-like » mais spira R



Mutant L22: « efflux-like » mais spira R,
hyper S cli/lin, Pri I/R

Conclusion

- Y a encore du boulot.... Et de la place pour les études cliniques