

CAPÍTULO 7

Estándares veterinarios para pruebas de sensibilidad antimicrobiana

Fabiana Alicia Moredo

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana estandarizadas para medicina veterinaria están disponibles desde la década de 1990, mientras que los laboratorios de diagnóstico de medicina humana contaban con ellas 30 años antes. Esto no es sorprendente dada la variedad de especies hospedadoras (animales de compañía, para consumo humano y exóticos) y las diferencias en la aplicación de los resultados de las pruebas, individual o poblacional (por ejemplo, los resultados obtenidos para un patógeno de un canino se usarán para seleccionar el tratamiento para el animal individual, mientras que la misma información para un aislamiento porcino se puede usar para diseñar una terapia poblacional). Estas variables son la principal causa para que la disponibilidad de métodos estandarizados y tablas de interpretación de resultados que proporcionen resultados precisos, reproducibles y clínicamente relevantes para los patógenos veterinarios es lento, aunque en las últimas 2 décadas se logró un progreso sustancial (Watts, 2018).

El uso apropiado y prudente de agentes antimicrobianos en medicina veterinaria es uno de los ítems claves que deben considerarse como estrategia de control de la RAM. Diversos organismos nacionales, europeos e internacionales tomaron la iniciativa para su promoción (OMS 2014, OIE 2012, EMA 2014, EFSA 2014, FVE 2012). Entre las medidas vinculadas al sector veterinario, numerosas directrices y recomendaciones nacionales e internacionales destacan la importancia del diagnóstico bacteriano y promueven la realización de pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Hasta hace no muchos años, no se realizaban con fines terapéuticos, sino que eran propias de trabajos de investigación, y se llevaban a cabo según normativas que rigen para aislamientos de origen humano (Toutain, 2017).

Actualmente, son dos las principales instituciones con mayor influencia en la aplicación de criterios de estandarización, el *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) de Estados Unidos y el *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) de la Unión Europea. Sin embargo, existen otros comités y agencias, con frecuencia de carácter nacional, que contribuyen con el desarrollo paralelo de programas de estandarización de las técnicas de estudio de sensibilidad y, sobre todo, de la interpretación de los resultados obtenidos.

Las diferencias entre distintos comités no sólo tienen un componente académico, sino que suponen, en ocasiones, serios problemas para estimar la importancia de la resistencia en

distintos países. La Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, a través del EUCAST (que representa sociedades científicas de la mayoría de los países europeos) y el CLSI, publican actualizaciones continuas, documentos sobre terminología, metodología de los estudios de sensibilidad *in vitro*, y determinación de puntos de corte de sensibilidad y resistencia para algunos antimicrobianos.

Actualmente, muchas de las pruebas que se utilizan para evaluar *in vitro* el comportamiento de los antimicrobianos en medicina veterinaria tienen normativas y documentos propios para poder prescribir tratamientos basados en ellas.

Como se describió en el capítulo anterior, para que los resultados de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana sean reproducibles y comparables, es fundamental seguir las directrices establecidas por instituciones de reconocimiento internacional como CLSI, EUCAST o ISO.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)

Los documentos del CLSI se centran en una variedad de áreas de especialidad, desde los conceptos básicos del laboratorio hasta los sistemas de gestión de calidad, verificación y validación y gestión de información. También desarrollan herramientas interactivas y productos complementarios.

El desarrollo de estándares comienza con voluntarios, quienes aportan una diversidad de conjuntos de habilidades, gran experiencia y vastos conocimientos de los requisitos regulatorios para liderar el desarrollo de estándares de laboratorios clínicos aplicables a nivel mundial. El enfoque colaborativo de CLSI garantiza una representación equilibrada de la comunidad global de laboratorios para producir estándares de consenso imparcial que pueden ser adoptados con confianza por laboratorios, médicos, agencias reguladoras y la industria en todo el mundo.

CLSI promovió la conformación de tres subcomités cuyo rol principal es colaborar con el desarrollo de los estándares y pautas que promuevan la realización de pruebas de sensibilidad antimicrobianas precisas y confiables e informes apropiados de resultados lo que permite el asesoramiento a los médicos en la selección de la terapia antimicrobiana adecuada: i) Subcomité de pruebas de sensibilidad antimicrobiana (AST) (del inglés *Antimicrobial Susceptibility Testing*), ii) Subcomité de pruebas de sensibilidad a los antifúngicos; iii) Subcomité de pruebas de sensibilidad antimicrobianas veterinarias (VAST) (del inglés *Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing*).

Los voluntarios del subcomité VAST colaboran con el desarrollo y promoción de estándares metodológicos, puntos de corte y categorías de interpretación de las pruebas de sensibilidad antimicrobianas *in vitro* para el estudio de bacterias de origen animal, aportan sugerencias para las pruebas y estrategias de informes que sean clínicamente relevantes y rentables, actualizan continuamente los estándares mediante el desarrollo de métodos nuevos o revisados, puntos de corte, categorías interpretativas y parámetros de control de calidad, instruyen a los usuarios a

través de la comunicación multimedia de estándares y pautas y fomentan el diálogo con los usuarios de estos métodos y quienes los aplican.

Los tres documentos de criterios de interpretación de pruebas de sensibilidad antimicrobiana del CLSI para bacterias y hongos para uso humano y veterinario están disponibles gratuitamente en su sitio web. También se encuentran otros recursos valiosos relacionados con las actividades y decisiones del Subcomité de Pruebas de Sensibilidad Antimicrobiana.

Documentos elaborados por el subcomité VAST

Hasta la fecha, los documentos elaborados por el subcomité VAST de relevancia para medicina veterinaria son:

VET01. *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, 5th Edition*. Publicado en 2018.

VET01S. *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, 5th Edition*. Publicado en 2020 (Reemplaza Vet-08 4th ed. y está disponible en línea, de manera gratuita).

VET02. *Development of Quality Control Ranges, Breakpoints, and Interpretive Categories for Antimicrobial Agents Used in Veterinary Medicine, 4th Edition*. Publicado en 2021.

VET03. *Methods for Antimicrobial Broth Dilution and Disk Diffusion Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals, 2nd Edition*. Publicado en 2020.

VET03 Supplement (VET04). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals, 3rd Edition*. Publicado en 2020.

VET05. *Generation, Presentation, and Application of Antimicrobial Susceptibility Test Data for Bacteria of Animal Origin, 1st Edition*. Publicado en 2011.

VET06. *Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria Isolated from Animals, 1st Edition*. Publicado en 2017.

VET09. *Understanding Susceptibility Test Data as a Component of Antimicrobial Stewardship in Veterinary Settings, 1st Edition*. Publicado en 2019.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)

EUCAST se formó en 1997 como un comité permanente organizado conjuntamente por ESCMID (del inglés *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*), ECDC (del inglés *European Centre for Disease Prevention and Control*) y comités de puntos de corte nacionales europeos.

EUCAST se ocupa de los puntos de corte y los aspectos técnicos de las pruebas fenotípicas de sensibilidad antimicrobiana *in vitro* y funciona como el comité de puntos de corte de la EMA (del inglés *European Medicines Agency*) y el ECDC. EUCAST no se ocupa de políticas de

antibióticos, vigilancia o contención de resistencias o control de infecciones. El Comité Directivo es el órgano de toma de decisiones. Cuenta con el apoyo de un Comité General con representantes de 50 países europeos y no europeos como Australia, Brasil, Canadá, China, Estados Unidos, Israel, Marruecos, Nueva Zelanda, Sudáfrica.

Desde 2019, todos los países europeos se rigen por las sus directrices y, a partir de 2020, el ECDC solo acepta "datos con fines de vigilancia" generados por laboratorios que utilizan los puntos de corte y métodos de EUCAST. Muchos países fuera de Europa también decidieron adoptar las directrices de EUCAST.

Los puntos de corte para nuevos agentes antimicrobianos se establecen como parte del proceso de concesión de licencias a través de la EMA o las agencias nacionales de medicamentos. Si bien con algunas limitaciones, los puntos de corte EUCAST también están disponibles para sistemas automatizados de sensibilidad antimicrobiana.

EUCAST está organizado en subcomités que se establecen para tratar cuestiones o áreas específicas que requieren conocimientos especializados. Las consultas y decisiones sobre las propuestas de los subcomités se realizan a través del Comité Directivo y sigue la estructura de todas las demás consultas y decisiones. En la actualidad, se encuentran vigentes: i) *Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing* (EUCAST-AFST), establecido en 2002. ii) *Veterinary Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (VetCAST), se formó en 2015 y se ocupa de todos los aspectos de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana de patógenos bacterianos de origen animal y bacterias animales con potencial zoonótico. Funciona de manera permanente y dentro del formato y estructura de EUCAST. iii) *Subcommittee on the role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing* creado en 2015. iv) *Subcommittee on antimicrobial susceptibility testing of Mycobacteria*. v) *Subcommittee on MIC distributions and the setting of ECOFFs*. vi) *Subcommittee on Anaerobe Susceptibility Testing* se encuentra revisando los puntos de corte para bacterias anaerobias y desarrollando los protocolos para las pruebas de sensibilidad por difusión.

La visión de VetCAST es contribuir con los estándares globales para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana de patógenos bacterianos de origen animal. Para cumplir con esta misión, es de suma importancia obtener el reconocimiento oficial de la EMA, el ECDC y la EFSA (del inglés *European Food Safety Authority*). El objetivo final es convertirse en un organismo operativo de la Unión Europea (UE) con base científica de EMA/CVMP (del inglés *Committee for Medicinal Products for Veterinary*) para la definición/aprobación de puntos de corte específicos para veterinarios.

Parte de las actividades que lleva a cabo VetCAST incluyen: i) Proporcionar asesoramiento sobre el tipo y la calidad de la CIM, los datos farmacocinéticos (PK) y clínicos necesarios para establecer puntos de corte clínicos; ii) Definir puntos de corte de CIM clínicos para nuevos agentes antimicrobianos veterinarios; iii) Revisar puntos de corte para medicamentos genéricos; iv) Asesorar sobre el espectro bacteriano de agentes antimicrobianos veterinarios.

La función de VetCAST es: i) Establecer un comité con fundamentos científicos para cooperar con los profesionales europeos en medicina veterinaria, la EMA, el ECDC y la EFSA; ii)

Determinar puntos de corte de antimicrobianos específicos para el campo veterinario; iii) Armonizar las pruebas veterinarias de sensibilidad a los antimicrobianos en la UE; iv) Estimular la capacitación sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos y la terapia antimicrobiana en el campo veterinario en Europa; v) Iniciar y coordinar la investigación en la UE destinada a dar claridad en las pruebas veterinarias de sensibilidad antimicrobianas; vi) Establecer puntos de corte específicos veterinarios faltantes o insuficientes (puntos de corte específicos de especies bacterianas, hospedadores animales e infecciones); vii) Elaborar métodos optimizados para las pruebas de sensibilidad antimicrobianas de patógenos bacterianos de origen animal y bacterias zoonóticas que pueden afectar a los seres humanos; viii) Asegurar que los protocolos de pruebas de sensibilidad antimicrobianas y los criterios de interpretación sean de libre acceso en línea a través del sitio web de EUCAST.

A esta información se puede acceder de forma libre en el sitio web de EUCAST. Las recomendaciones se actualizan con frecuencia y las últimas versiones están disponibles en www.eucast.org.

Referencias

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) <https://clsi.org/>

CLSI. Development of *In Vitro* Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters. 5th ed. M23. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. 5th ed. CLSI supplement VET01S. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.

CLSI. Procedure for optimizing disk contents (potencies) for disk diffusion testing of antimicrobial agents using harmonized CLSI and EUCAST criteria. 1st ed. CLSI supplement M23S. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) <https://www.eucast.org/>

Grupo Asesor de la OMS sobre Vigilancia Integrada de la Resistencia a los Antimicrobianos (AGISAR) 2017 <http://www.agisar.org/>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) 2018 Concienciación y abogacía para la contención de la resistencia a los antimicrobianos. Directrices para el diseño de estrategias bajo el enfoque una salud. Recuperado de (www.fao.org/publications).

Lueddeke GR, Kaufman GE, Kahn LH, Krecek RC, Willingham AL, Stroud CM, Lindenmayer JM, Kaplan B, Conti LA, Monath TP, Woodall J. 2016. Preparing society to create the world we need through 'One Health' education, South Eastern European Journal of Public Health (SEEJPH). <https://doi.org/10.4119/seejph-1841>

- FAO-OIEWHO Collaboration. A Tripartite Concept Note, 2010
https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Current_Scientific_Issues/docs/pdf/FINAL_CONCEPT_NOTE_Hanoi.pdf
- Organización Mundial de Sanidad Animal (2016) Estrategia de la OIE sobre la resistencia a los agentes antimicrobianos y su uso prudente,
https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/PortalAMR/ES_OIE-AMRstrategy.pdf
- European Committee on antimicrobial resistance VET CAST
https://eucast.org/ast_of_veterinary_pathogens/
- Organización Mundial de Sanidad Animal (2021). <https://www.oie.int/es/que-hacemos/iniciativas-mundiales/resistencia-antimicrobiana>. Recuperado 10 de julio 2021
- Organización Mundial de la Salud (27 de febrero 2017) Lista de bacterias de las que se necesitan nuevos antibióticos . <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> Recuperado 10 de julio 2021
- Organización Mundial de la Salud. Temas de Salud. Resistencia a los antimicrobianos 13 de octubre 2020 <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Recuperado 10 de julio 2021
- Toutain PL, Bousquet-Mélou A, Damborg P, Ferran AA, Mevius D, Pelligand L, Veldman KT and Lees P. 2017. En Route towards European Clinical Breakpoints for Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing: A Position Paper Explaining the VetCAST Approach. Front. Microbiol. 8:2344. doi: 10.3389/fmicb.2017.02344
- Watts JL, Sweeney MT. 2018. Antimicrobial susceptibility testing of bacteria of veterinary origin. Microbiol Spectrum 6(2):ARBA-0001-2017. doi:10.1128/microbiolspec.ARBA-0001-2017