



Instituto Nacional de
Enfermedades Infecciosas
"Dr. Carlos G. Malbrán"



RED WHONET
ARGENTINA
RED NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS



ANLIS
MALBRÁN
ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE LABORATORIOS
E INSTITUTOS DE SALUD "DR. CARLOS G. MALBRÁN"



Ministerio de Salud
Argentina

PROTOCOLO DE TRABAJO

Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET ARGENTINA

Servicio Antimicrobianos

Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas

ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"

Laboratorio Nacional y Regional de Referencia en Resistencia

a los Antimicrobianos

Centro Colaborador de OMS en Vigilancia de la Resistencia

a los Antimicrobianos

Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los

Antimicrobianos - WHONET-Argentina

CABA, SEPTIEMBRE 2020



ANLIS Dr. C. G. Malbrán. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Antimicrobianos. Protocolo de Trabajo Red WHONET Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: ANLIS Dr. C. G. Malbrán, 2020. (ANLIS/INEI/PT-WHONET-ARG;2020)
Disponible en: <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/1663>



“Este recurso es el resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899 y la política de gestión del conocimiento de la ANLIS”.

[Este obra está bajo una Licencia Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



Instituto Nacional de
Enfermedades Infecciosas
"Dr. Carlos G. Malbrán"



RED WHONET
ARGENTINA
RED NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS



ANLIS
MALBRÁN
ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE LABORATORIOS
E INSTITUTOS DE SALUD "DR. CARLOS G. MALBRÁN"



Ministerio de Salud
Argentina

PROTOCOLO DE TRABAJO

RED NACIONAL DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

WHONET-ARGENTINA

**Acordado en el "XIX Taller WHONET-Argentina"
CABA, Septiembre 2019**
**Actualizado por el Servicio Antimicrobianos,
Septiembre 2020**

Inicio de vigencia desde: 01-01-20
Próxima revisión: antes del 31-1-21
PT-WHONET-ARG-2020



INDICE

INTRODUCCION	6
JUSTIFICACION	6
OBJETIVOS DE LA RED WHONET ARGENTINA.....	7
MATERIALES Y METODOS	7
PROTOCOLO DE TRABAJO	8
I. ENTEROBACTERALES (excepto enteropatógenos).....	8
I.a. ENTEROBACTERALES (ETB) AISLADAS DE INFECCIÓN HOSPITALARIA (otros que Salmonella Y Shigella).....	8
1. CEFAZOLINA	9
2. DETECCION DE BLEE	10
3. CEFOXITINA	11
4. POLIPEPTIDOS	11
5. CARBAPENEMES.....	14
6. CIPROFLOXACINA	19
7. TIGECICLINA	19
8. CEFEPIME SENSIBILIDAD DOSIS DEPENDIENTE	20
9. NUEVAS DROGAS	20
10. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	22
I.b. INFECCIONES URINARIAS NO COMPLICADAS	23
1. CEFAZOLINA.....	23
2. RESISTENCIAS NATURALES	25
3. NOTA INTERPRETACION INTERMEDIO.....	25
4. CIPROFLOXACINA	25
5. FOSFOMICINA.....	25
6. POLIPEPTIDOS.....	26
7. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	26
II. ENTEROPATOGENOS	27
II.a. Salmonella sp. y Shigella spp.	27
1. CEFPODOXIMA	27
2. AZITROMICINA.....	28
3. POLIPEPTIDOS.....	28
4. CIPROFLOXACINA	29
5. FOSFOMICINA.....	29
6. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	29
II.b. Campylobacter spp.	29
II.c. Vibrio cholerae	30
III. OTROS BACILOS GRAM NEGATIVOS.....	31
III.a. P. aeruginosa	31
III.b. Acinetobacter spp.	31
1. POLIPEPTIDOS.....	31
2. REGISTRO EN WHONET DE CEPAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS	32
3. SULBACTAM.....	33
4. MINOCICLINA	33
5. CEFTAZIDIMA.....	33
6. CEFTAZIDIMA /AC. CLAVULANICO	33
7. TIGECICLINA.....	34
8. NUEVAS DROGAS.....	34
9. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	35
III.c. Aeromonas spp.....	35
III.d. Burkholderia cepacia	36
III.e. Stenotrophomonas maltophilia	36
IV. COCOS GRAM POSITIVOS	36
IV.a. Staphylococcus spp.	36
1. GLICOPEPTIDOS	37
2. MACROLIDOS Y LINCOSAMINAS	38
3. CEFOXITINA	38
4. LINEZOLID	40
5. MENINGITIS.....	40



6.	ORINA	40
7.	TIGECICLINA	40
8.	CEFTAROLINA y CEFTOBIPROLE	40
9.	SISTEMAS AUTOMATIZADOS	41
IV.b.	<i>Enterococcus</i> spp.	41
1.	GLICOPEPTIDOS	42
2.	TIGECICLINA	42
3.	SISTEMAS AUTOMATIZADOS	42
IV.c.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	43
1.	MACROLIDOS Y LINCOSAMINAS	43
2.	LEVOFLOXACINA	44
3.	GLICOPEPTIDOS	44
4.	SISTEMAS AUTOMATIZADOS	44
IV.d.	Otros estreptococos (<i>no neumococos</i>)	44
V.	<i>Haemophilus</i> spp.	46
VI.	<i>Neisseria meningitidis</i>	46
VII.	Recomendaciones para los participantes de la red WHONET-ARGENTINA	47
VIII.	Control de Calidad	49
1.	Controles de Calidad Externo	50
2.	Control de Calidad Interno	52
3.	Esquema (de mínima) sugerido para el control de discos	52
4.	Sistemas automatizados	53
5.	Control de calidad de las placas de agar Mueller Hinton	53
ANEXOS		56
	Tabla 1. Puntos de corte no incluidos en el CLSI	56
	Figura 1: Esquema de colocación de los discos para ETB	57
	Figura 2: Flujoograma para la detección e informe de BLEE en ETB por el método de difusión por discos ..	57
	Figura 3. Detección de carbapenemasas en Enterobacterales.	58
	Figura 4. Confirmación fenotípica de carbapenemasas en Enterobacterales (CPEs)	58
	Figura 5. Esquema de colocación de los discos para <i>P. aeruginosa</i>	59
	Figura 6. Esquema de colocación de los discos para <i>Acinetobacter</i> spp.	59
	Figura 7. Detección de carbapenemasas en <i>Pseudomonas</i>	60
	Figura 8. Detección de carbapenemasas en <i>Acinetobacter</i> spp.	60
	Figura 9. Puntos de corte 2017 para ETB para la interpretación del DCMBrit	61
	Figura 10. Detección de carbapenemasas en Enterobacterales. Panel CPO Phoenix	61
	Figura 11. Detección de carbapenemasas en <i>Pseudomonas</i> spp. Panel CPO Phoenix	62
	Figura 12. Detección de carbapenemasas en <i>Acinetobacter</i> spp. Panel CPO Phoenix	62
PARTICIPANTES DE LA RED WHONET-ARGENTINA		63



INTRODUCCION

La Red de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET-Argentina fue establecida en 1986 bajo la coordinación del Servicio Antimicrobianos del INEI-ANLIS "Dr. C. G. Malbrán" para proveer información a nivel nacional sobre los perfiles de resistencia a los antimicrobianos de patógenos hospitalarios y de la comunidad. En la actualidad está compuesta por 92 laboratorios clínicos (<http://antimicrobianos.com.ar/2020/09/participantes-de-la-red-WHONET-argentina/>) distribuidos en las 23 provincias de Argentina y Ciudad de Buenos Aires que aportan datos de sensibilidad a los antimicrobianos de aprox. 200.000 bacterias/año causantes de infecciones asociadas a cuidados de la salud e infecciones de la comunidad. Estos laboratorios se encuentran en instituciones de salud pública y privada con servicios de internación de diferentes niveles de complejidad y atención de paciente ambulatorios mediante consultorios externos o centros de salud de atención primaria asociados, recolectándose datos representativos de la población adulta y pediátrica.

La Red WHONET Argentina vigila la resistencia a los antimicrobianos de bacterias Gram positivas (estafilococos, estreptococos y enterococos) y Gram negativas (Enterobacterales, bacilos no fermentadores, *Haemophilus* spp., *Campylobacter* spp., etc) aerobias o anaerobias facultativas (excepto *Neisseria gonorrhoeae*) aisladas de infecciones jerarquizadas clínicamente (se excluyen los aislamientos de colonización o tamizaje).

Las pruebas de sensibilidad se realizan siguiendo este protocolo de trabajo consensuado entre el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) y los laboratorios participantes, por lo que se asegura la homogeneidad de los procedimientos. La calidad de los resultados de las pruebas de sensibilidad es monitoreada periódicamente mediante controles de calidad internos y un programa de evaluación externa de calidad (Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología) coordinado por el LNR.

Los datos de sensibilidad a los antimicrobianos son recopilados por los laboratorios mediante el software WHONET 5.6 (OMS). Estos datos son enviados periódicamente al LNR donde se realiza un consolidado que es analizado y publicado en forma de estadísticas anuales, tendencias en el tiempo y mapas de prevalencia de los mecanismos de resistencias críticos (<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2020/09/Vigilancia-Nacional-de-la-Resistencia-a-los-Antimicrobianos-Tendencia-2010-2019-parcial-Red-WHONET.pdf>).

JUSTIFICACION

La información obtenida a partir del análisis de los datos de sensibilidad a los antimicrobianos genera importantes aportes a distintos niveles.

A nivel local, el análisis de los datos por parte de los laboratorios que los generan permite contar con estadísticas que guíen los tratamientos empíricos locales.

A nivel provincial, su utilización por parte de los Referentes Provinciales de Redes de Laboratorio puede brindar información para la toma de decisiones a nivel provincial.

A nivel Nacional, estos datos pueden orientar la toma de decisiones por parte de las autoridades de Salud, sirven de base para el diseño y actualización de algoritmos para la detección de los mecanismos de resistencia, sirven como base para su utilización en consensos de sociedades científicas para establecer guías de tratamientos empíricos,



etc. A nivel Regional, los consolidados anuales son remitidos a la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (RELAVRA) para su publicación junto a los datos de los demás países de Latinoamérica y a nivel Global, también se comparten con el Sistema Global de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos de OMS (GLASS).

OBJETIVOS DE LA RED WHONET ARGENTINA

Inmediatos:

Optimizar la calidad del diagnóstico bacteriológico de los laboratorios participantes.
Detectar en forma temprana la aparición de nuevos mecanismos de resistencia o el aumento significativo de los ya existentes.
Organizar una base de datos sobre resistencia bacteriana en espacio y tiempo, y conocer la utilidad de los antimicrobianos de mayor importancia clínica.

A mediano plazo:

Establecer un Sistema Nacional Redes de Laboratorio Provinciales para la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos y la evaluación externa de la calidad. Fortalecer centros de referencia Provinciales o Regionales para la transferencia de conocimientos, el diagnóstico y caracterización de la resistencia a los antimicrobianos.

A largo plazo:

Implementar un sistema de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos oportuno, sostenible y de calidad en todos los laboratorios de bacteriología a nivel nacional y establecer un flujo de información y capacitación multidireccional que garantice el diagnóstico clínico y de la resistencia a los antimicrobianos en los laboratorios asistenciales de la Argentina.

MATERIALES Y METODOS

Los laboratorios que pertenecen a la Red poseen distintos niveles de complejidad en cuanto a las metodologías que están a su alcance, pero todos ellos realizan pruebas de sensibilidad de manera estandarizada y protocolizada.

Determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos

Se utilizarán los métodos de difusión con discos y/o sistemas automatizados y/o epsilometría. Las pruebas de sensibilidad se realizan e interpretan de acuerdo con los estándares del Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) vigentes y adoptando e implementando este protocolo de trabajo establecido y actualizado anualmente por la Red.

Para algunas combinaciones de bacteria/droga, se podrán utilizar puntos de corte de recomendados por otras normas o por el LNR al igual que métodos alternativos de screening, previamente validados en el LNR (ej, colistín agar spot, elución con discos, etc.).

Algunos aislamientos debido a sus mecanismos de resistencia deberán ser derivados al LNR para su confirmación molecular, siguiendo las recomendaciones de las Reglas de Derivación actualizadas anualmente por el LNR:



(<http://antimicrobianos.com.ar/2017/11/reglas-de-derivacion-2017/>)

Microorganismos a considerar y antimicrobianos a ensayar en cada caso

Se incluirán en el sistema todos los microorganismos aislados sucesivamente y considerados clínicamente significativos como causantes de un proceso infeccioso. El sistema es capaz de analizar, si se desea, sólo un microorganismo por paciente según varios criterios a determinar. No se incluirán gérmenes de colonización o contaminación a menos que esto se indique inequívocamente en el campo de datos correspondiente.

Sistemas automatizados

En esta edición del protocolo WHONET incluiremos una sección específica para los sistemas automatizados. En la misma se indican los discos no incluidos en las tarjetas/paneles de los sistemas automatizados y que deben ser completados por los laboratorios pertenecientes a la Red en función del compromiso asumido de cumplimiento del protocolo de trabajo. También se propone una guía de las acciones a seguir para confirmar algunos fenotipos y completar el informe de sensibilidad a los antimicrobianos.

Al final de cada sección que describe un tipo de antibiograma se incluirá el punto "SISTEMAS AUTOMATIZADOS" con un resumen de las acciones a seguir. En el anexo "Protocolo WHONET de Sistemas Automatizados" se proporciona una descripción más detallada de cada uno de los ítems.

PROCOLO DE TRABAJO

Las recomendaciones que figuran en este protocolo son el resultado del acuerdo logrado entre todos los participantes en el taller de la red realizado en **Septiembre de 2019 y actualizadas en septiembre de 2020 por el LNR**. En la presente edición se incorporaron algunas modificaciones en función a cambios en la normas CLSI vigentes. En rojo figuran las modificaciones introducidas al protocolo original.

I. ENTEROBACTERALES (excepto enteropatógenos)

I.a. ENTEROBACTERALES (ETB) AISLADAS DE INFECCIÓN HOSPITALARIA (otros que Salmonella Y Shigella)

Antibiograma mínimo (tres placas) (n= 17+1)

Cefazolina (1)	Gentamicina
Amoxicilina/ac. Clavulánico (2)	Amicacina
Cefotaxima (2)	Trimetroprima/sufametoxazol
Ceftazidima (2)	Meropenem (5)
Cefoxitina (3)	Colistin (4) OPTATIVO
Piperacilina/tazobactama	Cefepime (8)
Imipenem (5)	Ertapenem (5)
Ciprofloxacina (6)	Tigeciclina (7)**
Ceftazidima/Avibactam(CZA) 10/4ug (9)	Ceftolozano /Tazobactam (C/T)(9)



En 2019 se eliminaron del protocolo los discos de Ampicilina y Ac. Nalidíxico para dar lugar a los discos de CZA (10/4ug) y C/T. El disco de colistín (COL) se mantiene como optativo con fines de identificación y como screening de mecanismos de resistencia.

COLCOCACION DE LOS DISCOS. (FIGURA 1)

Para los que no utilizan aplicador, se colocarían los 6 discos cerca de los bordes de las placas (sin disco en el medio).

Colocar el disco de ceftazidima (CAZ) junto al de IMI (a 2.0 cm) para detectar las OXA-163 ($\approx 40\%$ de los casos cursan con sinergia IMP-CAZ) o eventualmente BLEEs derivadas de GES, PER u otras (Ver esquema de colocación de los discos en la figura 1).

ESQUEMA DE MAXIMA:

En centros de salud con elevada prevalencia de KPC y/o MBL, ensayar en el antibiograma inicial el disco de ácido borónico cerca del IMP y/o el disco de EDTA entre los discos de cefotaxima (CTX) y meropenem (MER) (ver esquema de colocación de discos, Figura 1).

1. CEFAZOLINA

El punto de corte de cefalotina (CTN) fue removido de la tabla 2A en la versión M100S-26 de CLSI (2016) y ediciones posteriores, por lo que esta droga fue eliminada de la placa de infecciones intrahospitalarias. En su lugar se utilizará cefazolina (CFZ) que es una cefalosporina de primera generación de uso parenteral.

CFZ posee dos puntos de corte (para *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis*) que se utilizan en 3 escenarios clínicos diferentes por lo que debería informarse cuidadosamente según el tipo de infección:

Tipo de infección	ATB y Vía de administración	Dosis	DISCO CFZ (mm)		CIM CFZ (ug/ml)	
			S	R	S	R
Distinta de IUBNC ¹	CFZ, Parenteral (iv)	2 gr/8hs	≥ 23	≤ 19	≤ 2	≥ 8
IUBNC ²	CFZ, Parenteral (iv)	1 gr/12hs				
IUBNC ³	CFZ como predictor de cefalosporinas orales	No aplica	≥ 15	≤ 14	≤ 16	≥ 32

IUBNC: infección urinaria baja no complicada, CFZ: cefazolina

¹Uso de CFZ como tratamiento **parenteral** de infecciones distintas de IUBNC

²Uso de CFZ como tratamiento **parenteral de IUBNC**

³Uso de CFZ como **predictor de sensibilidad a las CO (Cefaclor, Cefnidir, Cefpodoxima, Cefuroxima, Cefprozilo, Cefalexina y Loracarbef) en IUBNC**

MODELOS DE INFORME:

En infecciones por bacilos Gram negativos (BGN) de origen hospitalario se debe informar según el tipo de infección:



1. En infecciones distintas de IUBNC, **si en su hospital usan CFZ**: "CFZ iv: Sensible/ Resistente para infecciones distintas de IUBNC *basado en un régimen de 2g cada 8hs*" (utilizar el punto de corte $S \geq 23/R \leq 19$ mm)
2. En IUBNC, **si en su hospital usan CFZ**: "CFZ iv: Sensible (S) / Resistente (R) para IUBNC exclusivamente *basado en un régimen de 1g cada 12hs*" (utilizar el punto de corte $S \geq 15, R \leq 14$ mm)
3. En IUBNC: "El aislamiento en estudio es S / R a las cefalosporinas orales (cefaclor, cefdinir, cefpodoxima, cefprozilo, cefuroxima, cefalexina y loracarbef)* cuando se utilizan como tratamiento de IUBNC exclusivamente". (Utilizar el punto de corte $S \geq 15, R \leq 14$ mm)

***poner en el informe solo las CO que se utilizan en su hospital.**



NOTA 1: si en su hospital no utilizan CFZ iv entonces sólo informar la opción 3.

NOTA 2: Si el aislamiento resulta resistente a CFZ puede haber sensibilidad a cefaclor, cefuroxima y cefnidir, por lo que estas drogas no se incluyen en el reporte de resistencia y si se fueran a utilizar como tratamiento, se deben probar individualmente e informar según cómo den (su prueba es de carácter optativo).



IMPORTANTE: nunca extrapolar el resultado de interpretación de CFZ parenteral ($S \geq 15$ mm) a CTN. Esta es menos activa que CFZ por lo que reportar en base a CFZ podría conducir al reporte de falsa sensibilidad en un orden del 30% (errores muy mayores).

2. DETECCIÓN DE BLEE

Ubicar el disco de amoxicilina /ác. clavulánico (AMC) entre los discos de CTX y CAZ (25-30mm de separación de centro a centro). Un agrandamiento o deformación de la zona de inhibición de CTX o CAZ en las proximidades del disco de AMC confirma la presencia de β -lactamasas de espectro extendido (efecto "huevo"). Si ese es el caso, cargar en el sistema los diámetros obtenidos con las cefalosporinas de tercera generación (C3G), cefepime (FEP) y los monobactames pero informar al cuerpo médico **"resistencia a todas las penicilinas, cefalosporinas (excepto FOX) y monobactames (aztreonam) independientemente que se observe sensibilidad *in vitro* de cualquiera de ellas"**. Registrar el tamaño de la zona de inhibición correspondiente a CTX o CAZ sin considerar la deformación producida por el inhibidor. **Seleccionar en el campo "BLEE" y cargar siempre el resultado ya sea "+ o -"**.



NOTA: no utilizar el campo BLEE_Argentina (es un campo viejo que ya no tiene vigencia y no se incluye en el análisis Nacional)

Los puntos de corte de sospecha de BLEE son los que figuran en la Tabla 3A del documento M100S29 del CLSI para *E. coli*, *Klebsiella* spp y *P. mirabilis* frente a CTX (≤ 27 mm) y CAZ (≤ 22 mm) que se hacen extensivos a aislamientos de *Salmonella* spp. y *Shigella* spp.

En caso de obtener un resultado negativo para la presencia de BLEE interpretar el aislamiento con los nuevos puntos de corte que figuran en la Tabla 2A-1 del CLSI vigente e informar R, I o S de acuerdo al halo obtenido para cada cefalosporina (ver figura 2).



Derivar al LNR: todo aislamiento que produzca BLEE inusual con resistencia a FEP y sensibilidad a CAZ y CTX.

3. CEFOXITINA

Se utiliza para control de calidad de la tipificación y estimación del mecanismo de resistencia. La resistencia a FOX, puede implicar presencia de AmpC cromosómica (*Serratia* spp, *Providencia* spp, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp o *Morganella morganii*) La resistencia enzimática a cefoxitina es determinada por β -lactamasas tipo AmpC o carbapenemasas (excepto OXA-163) y no por BLEE o BLEA.

En el caso de *Klebsiella* spp, *Salmonella* spp, *Shigella* spp o *Proteus* spp resistentes a FOX se puede diferenciar la presencia de un mecanismo enzimático (AmpC plasmídicas) de resistencia por impermeabilidad ubicando un disco de APB en medio de un disco de CTX y FOX. Si se observa una deformación del halo de las cefalosporinas se confirma la presencia de AmpC plasmídica.

4. POLIPEPTIDOS

Resistencia Natural (RN) a polimixina o COL: *Proteus* spp, *M. morganii*, *Providencia* spp, *Serratia* spp, *Cedecea* spp o *Edwardsiella tarda*.

4.1. METODOS PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD A COLISTIN

La difusión con discos de COL presenta una gran cantidad de errores que resultan **inaceptables para guiar un tratamiento clínico** por lo que la prueba del disco de COL puede realizarse de manera optativa solo con fines de:

- identificación, o
- screening de mecanismos de resistencia (ej. R a COL mediada por mcr-1 en aislamientos de *E. coli* y en otras ETB que no presenten resistencia extrema) (ver derivar al LNR).

En el caso de los Sistemas Automatizados y del Método Epsilométrico, en 2017, numerosos trabajos demostraron que presentan EVM (errores muy mayores o falsos sensibles) superiores a los valores aceptables para FDA. Por lo tanto, en infecciones por ETB donde COL va a ser utilizado como tratamiento debemos confirmar los resultados **sensibles** con alguno de los **métodos alternativos** recomendados abajo. **Los aislamientos resistentes pueden ser informados sin confirmación alguna** dado que los EM (errores mayores o falsos resistentes) se encuentran dentro de lo aceptado por el FDA ($\leq 3\%$).

En infecciones por cepas multirresistentes (MR), cuando el cuerpo médico requiera utilizar esta droga como tratamiento se debe evaluar su actividad por algún **método de referencia**:

- microdilución o macrodilución en caldo (propuestos por CLSI y EUCAST)
- dilución en agar*, Microscan o Sensititre (según recomendación del LNR).

Debido a que estos métodos no están al alcance de los laboratorios clínicos, el LNR ha evaluado otros **métodos alternativos** que han demostrado un excelente desempeño para la determinación de la sensibilidad al COL:



- Predifusión con tabletas de COL,
- COL Agar Spot,
- COL test,
- Elución con discos de COL*, y
- COL Drop.

Ver en <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Boletin-PCC-NAC-Nro.5-Metodos-de-Evaluacion-Sensibilidad-a-POLIMIXINAS-Sep-20171.pdf> y <http://antimicrobianos.com.ar/2017/09/protocolos-colistin/>

*En M100-S30 Tabla 3D (2020), CLSI propone la **Elución con discos (CBED) y el Colistín Agar Test (una dilución en agar con pequeñas modificaciones) como métodos aceptables para determinar la sensibilidad a colistín.**

4.2. CAMPO SENSIBILIDAD A COLISTIN

En 2019 se incorporó este campo a la configuración WHONET. Solo se deben cargar los resultados de los métodos aceptados (métodos de referencia o alternativos) para la evaluación de la sensibilidad a COL. No se cargarán aquí los resultados de métodos cuestionados por su gran cantidad de errores (difusión con discos, Viteck 2C, Phoenix o método epsilométrico, estos resultados se siguen cargando en los campos habituales).

Las opciones de llenado del campo serán S, I o R.

Los resultados de interpretación de Microscan, Sensititre, Elución con discos, Dilución en agar, macro o microdilución en caldo y predifusión se cargan como S o R según corresponda.

La presencia de crecimiento en Agar Spot, Col Brit o Colistín Drop se cargan como "R" y la ausencia de desarrollo se considera "S".

La opción I sirve para las situaciones indeterminadas de las técnicas de elución, micro o macrodilución en caldo (ej: crecimiento en tubos/pocillos salteados) o los intermedios de la predifusión.

Las opciones de llenado del campo "sensibilidad a COL" no corresponden al informe clínico al paciente (Ver Modelo de Informe).

4.3. PUNTOS DE CORTE DE COLISTIN

En 2020, CLSI en su documento M100-S30, recomienda los siguientes puntos de corte para todos los **Enterobacteriales, Pseudomonas aeruginosa y Acinetobacter baumannii complex: INTERMEDIO $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ y RESISTENTE $\geq 4 \mu\text{g/ml}$, eliminando de esta manera la categoría SENSIBLE.**

En el caso de los Enterobacteriales, la interpretación recomendada por CLSI es **I[^], lo que** indicaría que la droga puede concentrarse en ciertos sitios anatómicos (principalmente en orina). De esta manera se provee al médico de información que contribuiría a una correcta toma de decisión terapéutica.

Basándose en nuevos consensos internacionales¹, CLSI elimina la categoría sensible porque sostiene² que:

- no hay valores de CIM asociados a una alta probabilidad de éxito de tratamiento,
- que los tratamientos basados en COL tienen mayor nefrotoxicidad y son inferiores comparados con aquellos que utilizan las nuevas drogas, y
- que hay dificultades metodológicas para determinar con certeza CIMs < 2ug/ml.



Por su parte EUCAST, en sus recomendaciones 2020, mantiene los puntos de corte de 2019 para **Enterobacteriales, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.* : SENSIBLE $\leq 2 \mu\text{g/ml}$ y RESISTENTE $\geq 4 \mu\text{g/ml}$.**

EUCAST argumenta que si bien en determinadas situaciones son preferibles las nuevas drogas en lugar de COLISTIN; el informe de INTERMEDIO en lugar de SENSIBLE eliminaría la posibilidad de que se use COLISTIN en circunstancias donde no estén disponibles otras opciones. Por lo tanto, recomienda informar SENSIBLE o **RESISTENTE** advirtiendo que deben usarse las dosis apropiadas y considerando la posibilidad de utilización de tratamientos combinados².

1 "International Consensus Guidelines for the Optimal Use of the Polymyxins" Tsuji et al. 2019. Pharmacotherapy Vol 39, 1

2 "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) position statements on polymyxin B and colistin clinical breakpoints." Satlin MJ et al. 2020. Clin Infect Dis. Vol 13

4.4. RECOMENDACIÓN PARA EL INFORME DE COLISTIN (LNR)

- Se sugiere informar SENSIBLE o **RESISTENTE** según el resultado del Método Alternativo utilizado para el estudio de sensibilidad a COLISTIN.
- Si se utiliza un Método de Referencia de CIM, recomendamos utilizar los puntos de corte del EUCAST 2020, hasta que **se disponga de más evidencia sobre la utilidad de** informar con el punto de corte de CLSI 2020.
- Si se utilizan métodos automatizados (Phoenix o Vitek) o epsilométricos, solo se pueden informar los resultados de **RESISTENTE**. Los resultados de **SENSIBILIDAD** deben estudiarse con algún Método deR o Alternativo.
- Al igual que en 2019, el documento M100-S30 2020 sostiene que las CIMs de COLISTIN predicen las CIMs de Polimixina.
- **En todos los casos recomendamos acompañar el informe de sensibilidad a COLISTIN de una nota que diga:**

NOTA : "*COLISTIN es una droga con un estrecho margen terapéutico y elevada toxicidad. Se debe utilizar a las dosis apropiadas (dosis máximas ajustadas a la función renal e incluir dosis de carga) y considerar el uso de tratamientos combinados. La administración endovenosa de COLISTIN no asegura el éxito para el tratamiento de neumonías.*"

4.5. EMERGENCIA DE mcr-1

En Noviembre de 2015 se detectó por primera vez la resistencia plasmídica a colistín en un aislamiento de *E. coli* en China. En 2016, el LNR emitió una alerta epidemiológica notificando la detección de circulación de este mecanismo en Argentina (<http://antimicrobianos.com.ar/2016/02/alerta-epidemiologico-emergencia-de-resistencia-plasmidica-transferible-a-colistinopolimixina-b-mcr-1-en-argentina/>).

Los métodos de determinación de sensibilidad disponibles en el mercado: Vitek2C, Phoenix, MicroScan, Microdilución, Sensititre, Agar dilución, tiras de gradiente y predifusión con tabletas (Rosco) podrían detectar la resistencia plasmídica a polipéptidos. El 92% de los aislamientos mcr positivos tuvieron halos de COL $\leq 11\text{mm}$. Se recomienda probar el disco de COL **como screening de este mecanismo** en lugar de POL debido a que presenta un mejor desempeño como predictor de la resistencia a COL.



NOTA: En 2019, se incorporó la opción mcr-1 positivo o negativo en el campo PCR/IC para consignar la confirmación o no de la resistencia a COL mediada por este mecanismo.

Derivar al LNR:

- los aislamientos de *E. coli* con CIM a COL $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ o halo $\leq 11 \text{ mm}$ o método alternativo positivo,
- cualquier ETB (no *E. coli*) con resistencia adquirida a COL (CIM a COL $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ o halo $\leq 11 \text{ mm}$ o método alternativo positivo) sin resistencia a carbapenemes (distinta de la R intrínseca del germen)

Estos criterios serán actualizados a medida que se avance en el entendimiento de la epidemiología local (ver reglas de derivación vigentes en <http://antimicrobianos.com.ar/2017/11/reglas-de-derivacion-2017/>).

5. CARBAPENEMES

5.1. DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS

La resistencia a carbapenemes en ETB es cada vez más frecuente. Si se utiliza el método de difusión con discos se debe tener en cuenta el punto de corte de **IMI $\leq 22 \text{ mm}$** como screening de presencia de carbapenemasas, excepto en *Salmonella spp* que se utiliza **IMI $\leq 24 \text{ mm}$** y en tribu Proteaeae donde se utiliza **MER $\leq 22 \text{ mm}$** debido a que las cepas salvajes presentan sensibilidad disminuida a IMI. **Estos criterios se actualizan a medida que se avanza en el entendimiento de la epidemiología local (ver reglas de derivación vigentes en <http://antimicrobianos.com.ar/2017/11/reglas-de-derivacion-2017/>).** (Ver algoritmo para detección de carbapenemasas en Figura 3.)

Con IMI y MER podemos detectar la mayoría de las carbapenemasas que circulan en nuestro medio (KPC y MBL), pero un pequeño porcentaje de estas enzimas y la mayoría de las carbapenemasas de Clase D prevalentes en Argentina (OXA-48 like, principalmente OXA-163) escapan a la detección con estos dos carbapenemes por lo que debe recurrirse al **Ertapenem (ERTA)**. Este es el antimicrobiano que detecta mejor los bajos niveles de resistencia a los carbapenemes, pero presenta baja especificidad para detectar carbapenemasas. En ETB de Argentina, la resistencia a ERTA también puede deberse a la combinación de BLEE tipo CTX-M con impermeabilidad (menos frecuentemente se ha asociado a β -lactamasa tipo AMP-C). Estas cepas presentan un fenotipo característico de resistencia escalonada a los carbapenemes. Las carbapenemasas tipo OXA pueden cursar con un fenotipo similar a la combinación de BLEE tipo CTX-M con impermeabilidad. **Para recuperar especificidad se recomienda evaluar el resultado de ERTA junto con el de piperacilina tazobactam (PTZ): esta combinación permitiría sospechar aquellas serino carbapenemas, principalmente las del tipo OXA-48-like o eventualmente otras carbapenemasas que sean sensibles a imipenem y meropenem.**

Para diferenciar los mecanismos duales (BLEE/impermeabilidad) de OXA-163 en ETB (no Proteaeae) deben ser evaluados conjuntamente los siguientes Indicadores:



Marcador fenotípico	OXA-163 (Kpn, Eco, Ecl, Sma)	CTX-M/ impermeabilidad
ERTA*	I, R (>95%)	S, I, R
PTZ	<=15 mm >=128 µg/ml (100%) (ver algoritmos para los puntos de corte equivalentes en met. Automatizados)	Variable (excluir OXA si halo >15 mm o CIM < 128 µg/ml)
CAC-CAZ	<=3 mm (85%)	>=4 mm (85%)
Blue CARBA / Carba NP	Negativo (80%) (Reportar carbapenemasa si el resultado es positivo)	Negativo (100%)
THT	POSITIVO	VARIABLE. (Descartar carbapenemasa si el resultado es negativo)
Disco combinado MERO- TAZOBACTAM (DCM Brit)	< 5 mm de incremento respecto de MERO	>= 5 mm de incremento respecto de MERO
INMUNOCROMATOGRAFIA	Positiva (hay kits que discriminan OXA-163 de OXA-48)	Negativa (100%)

* En el caso particular de la **tribu Proteae**, el disco de ERTA no detecta a todos los productores de OXA-163 porque algunos resultan sensibles a esta droga, en este caso debe recurrirse al uso de los discos de **FEP y PTZ** como screening para aumentar la sensibilidad. (ver Figura 3: Algoritmo para detección de carbapenemasas.)

5.2. METODOS CONFIRMATORIOS DE CARBAPENEMASAS

Ante sospecha de presencia de carbapenemasa, esta debe confirmarse mediante alguno de los métodos que figuran a continuación siguiendo las recomendaciones del esquema de confirmación fenotípica de la Figura 4.

5.2.1 SINERGIAS - DISTANCIA AJUSTADA ENTRE DISCOS

Frente al aislamiento de una cepa con halo imipenem (IMI) ≤ 22 mm (o MER en tribu Proteae) y sin sinergia en el antibiograma inicial con APB y/o EDTA, recomendamos confirmar la sinergia ajustando la distancia entre discos según la siguiente fórmula:

$$\text{Distancia (centro a centro)} = \text{radio ATB1} + \text{radio inhibidor} + 5 \text{ mm}$$

Ejemplo:

IMIPENEM = 16 mm

APB o EDTA = 6 mm (se infiere que no dan halo de inhibición)

Distancia (centro a centro) IMP-APB/EDTA = $16/2 + 6/2 + 5 = 16\text{mm}$

5.2.2. METODO DE DISCOS COMBINADOS DE MEROPENEM (DCM)

Incluyen los Kits de Rosco, DCMBrit y Mast. Consiste en la detección de la inhibición de los distintos tipos de carbapenemasas, midiendo las diferencias de halos entre el disco de meropenem vs discos de meropenem combinados con distintos inhibidores (APB,



EDTA, Ac. Dipicolínico, Cloxacilina, Tazobactam).

Los resultados se interpretan según las recomendaciones del fabricante. Los puntos de corte para interpretar el DCMBrit en ETB fueron reevaluados post marketing en el LNR y se muestran en la Figura 9.

NOTA: Solo valorar los resultados del DCM-Brit si el halo de MER del kit es $\leq 22\text{mm}$. Con halos de MER $\geq 23\text{mm}$, puede no verse el efecto de los inhibidores y conducir a resultados falsos positivos para el fenotipo de OXA-48 like.

5.2.3. METODOS COLORIMETRICOS

Incluye Blue-Carba test o Carba NP-Direct o cualquiera de sus variantes comerciales (Rapidec, Rapid CARB, Blue Kit, BlueCarba Disk, etc). Son métodos de detección rápida de carbapenemasas basados en la capacidad de hidrolizar imipenem, lo que produce un cambio de color del indicador de pH.

Ver protocolo Blue-Carba test y Carba NP-Direct en: <http://antimicrobianos.com.ar/category/protocolo/>. El BlueCarba Disk permite la clasificación de las carbapenemasas en Clase A, B y D.

5.2.4. TEST DE HODGE CON AGREGADO DE TRITON (THT):

Es un método microbiológico que pone de manifiesto la capacidad de las carbapenemasas de hidrolizar un carbapenem (generalmente MER).

Consiste en el agregado de Tritón a las placas de MH en que se realiza el Test de Hodge con la finalidad de exaltar la detección de las carbapenemasas en general, y en particular aquellas que están ancladas en la membrana como las NDM.

Ver protocolo en: <http://antimicrobianos.com.ar/2016/03/triton-hodge-test-tht-deteccion-de-carbapenemasas-mediante-test-de-hodge-mejorado/>

5.2.5. mCIM (modified Carbapenemase Inhibition Method) y eCIM:

Consiste en pre-incubar la cepa en estudio en un caldo con un disco de MER. La presencia de carbapenemasa se evidencia ubicando el disco en una placa inoculada con *E. coli* ATCC 25922 y luego de una incubación de 18hs se lee el tamaño del halo. El eCIM incluye el EDTA como inhibidor en la pre-incubación lo que permite detectar la presencia de metalobetalactamasas (MBL) cuando se compara el halo resultante con el del eCIM. Ver protocolo según CLSI M100 Ed. 29ª-Tabla 3D (2019).

5.3. REGISTRO EN WHONET DE CEPAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS



IMPORTANTE:

TODAS LAS ETB CON SOSPECHA DE CARBAPENEMASA (al menos algún carbapenem afectado o alarma de OXA-48like en Tribu Proteeae según los algoritmos del LNR) **DEBEN TENER COMPLETO EL CAMPO MECANISMO DE RESISTENCIA SIN EXCEPCIÓN.**

Los campos Serin-carbapenemasa y Metalocarbapenemasa ya no serán analizados por el LNR a partir de los datos 2020, pero **NO** deben ser borrados de la configuración para no perder los datos anteriores.

5.3.1. RESISTENCIA ENZIMATICA: completar según el test realizado:



- ✓ **Test de Hodge Modificado con o sin Tritón:** positivo, negativo o indeterminado
- ✓ **Método colorimétrico:** positivo, negativo o indeterminado
- ✓ **mCIM:** positivo, negativo o indeterminado

5.3.2. MECANISMO DE RESISTENCIA A CARBAPENEMES: se debe consignar el mecanismo inferido por el resultado de las pruebas confirmatorias. Las opciones dentro de este campo son:

- ✓ **Tipo KPC: ETB NO productoras de AmpC** cromosómica con:

- Sinergia con APB positiva **y/o**
- PCR positiva para KPC **y/o**
- IC positiva para KPC.
- **Blue Carba Disk positivo para Clase A**
- **CPO positivo para Clase A (ver figura 10)**

Nota: en ETB productoras de AmpC la sinergia con APB da falsos positivos por la inhibición de la ApmC por lo que en estas enterobacteriales no se debería tener en cuenta este **resultado** para la confirmación de carbapenemasas, sino que se debería jerarquizar las siguientes pruebas:

- método colorimétrico positivo sin sinergia con EDTA **o**
- mCIM positivo sin sinergia con EDTA **o**
- Sinergia con APB positiva **y** falta de inhibición por cloxacilina **o**
- DCM positivo para KPC **o**
- PCR / IC positiva para KPC **o**.
- **Blue Carba Disk positivo para Clase A o**
- **CPO positivo para Clase A (ver figura 10)**

- ✓ **Tipo MBL:**

- Sinergia con EDTA / ác. Dipicolínico positiva **y/o**
- Δ mCIM - eCIM positiva, **y/o**
- PCR / IC positiva para MBL
- **Blue Carba Disk positivo para clase B**
- **CPO positivo para Clase B (ver figura 10)**

- ✓ **Tipo OXA:**

- THT positivo+ DCM **sin delta para todos los inhibidores (EDTA/ ác. Dipicolínico, APB, y/o**
- PCR / IC positiva para OXA.
- **Blue Carba Disk positivo para clase D**
- **CPO positivo para Clase D (ver figura 10)**
- **No incluir aislamientos que no sean confirmados por alguno de los métodos anteriores.**

- ✓ **Carbapenemasa:** incluye las ETB donde se detecta actividad enzimática con métodos específicos pero no dan sinergia con los inhibidores, que den:

- Método colorimétrico y/o mCIM positivos **y** sinergia con inhibidores negativa o sin resultado. **Estos aislamientos deberían ser enviados al LNR para su derivación.**
- **No incluir ETB con THT positivo sin hacer ninguna otra prueba confirmatoria debido al alto porcentaje de falsos positivos.**



- ✓ **Combinación de carbapenemasas:** ETB en las que por PCR o IC se haya determinado la presencia de más de una carbapenemasa.
- ✓ **NO CARBAPENEMASA:** incluye las ETB con criterio de sospecha donde ha sido descartada la presencia de carbapenemasa mediante métodos confirmatorios. Serían fenotipos de BLEE+ impermeabilidad o AmpC+ impermeabilidad con:
 - THT **negativo y** mCIM negativo/método colorimétrico negativos, o
 - THT **positivo y** mCIM / Método colorimétrico negativos **con IC / PCR negativa para OXA-48 like**
 - En **ETB productoras de AmpC** cromosómica con:
 - Sinergia con APB positiva **y** método colorimétrico negativo/ mCIM negativo **o**
 - Sinergia con APB positiva **e** inhibición por cloxacilina **o**
 - CPO negativo para Clase A, B y D (ver figura 10)

5.3.3. PCR / INMUNOCROMATOGRAFIA: se debe consignar el resultado del tipo de carbapenemasa (KPC, NDM, etc) que surge de las técnicas moleculares (PCR) o inmunocromatográficas (IC) que se realizan. **También se agregaron en este campo las opciones**

mcr-1 positiva o negativa para asentar la confirmación molecular del mecanismo de resistencia transferible a colistín. Se deben cargar por igual los resultados generados en el propio laboratorio o en el LNR.



IMPORTANTE:

REGISTRO EN WHONET DE CEPAS DE HISOPADOS DE VIGILANCIA O COLONIZACIONES. Cabe recordar en este punto que las cepas de colonización no deben ingresarse a WHONET o debe aclararse tipo de muestra "screening".

Derivar al LNR:

En caso de confirmarse la producción de cualquier tipo de carbapenemasa remitirse al documento "Reglas de Derivación" (<http://antimicrobianos.com.ar/2017/11/reglas-de-derivacion-2017/>) donde constan las cepas que deben enviarse.



NOTA FOSFOMICINA:

En casos de aislamientos productores de carbapenemasas, debido a las escasas opciones de tratamiento disponibles, es recomendable probar el disco de fosfomicina (y tigeciclina) para poder informar la sensibilidad a esta droga para su utilización por vía parenteral. Existen dos formatos comerciales para este disco: fosfomicina 50 µg/ glucosa-6-P 50µg y fosfomicina 200 µg/ glucosa-6-P 50µg pero CLSI no dispone de puntos de corte para su uso i.v. En vista de esto, el LNR - Servicio Antimicrobianos realizó un estudio de correlación para determinar los puntos de corte para ambos discos usando como método de referencia la dilución en agar y el punto de corte de CIM del EUCAST para fosfomicina i.v.

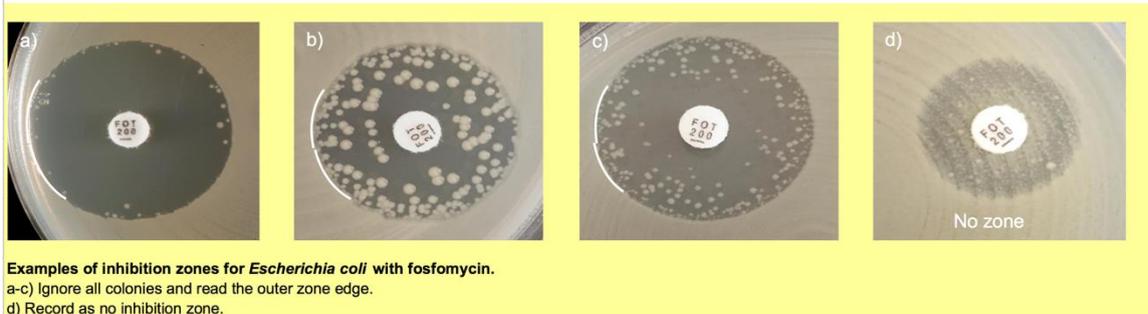
Los puntos de corte recomendados figuran en la **Tabla 1: Puntos de corte no incluidos en el CLSI.**



Debe tenerse especial cuidado al leer la zona de inhibición de los discos de fosfomicina. No deben considerarse las colonias dentro del halo de inhibición, sino que debe leerse sólo el crecimiento que genera un halo definido.

Sugerimos que en futuras compras de disco se priorice la carga de 200ug, así unificamos la carga en toda la Red.

Ejemplo de lectura de discos de FOS según EUCAST 2017:



5. CIPROFLOXACINA

En 2019 CLSI modificó los puntos de corte de ciprofloxacina y levofloxacina para ETB y *Pseudomonas aeruginosa*. Según estudios realizados en el LNR, los nuevos puntos de corte detectan más del 90% de los aislamientos que presentan la primera mutación en QRDR o mecanismos plasmídicos de R a fluorquinolonas (PMQR) por lo que se discontinúa la búsqueda de aislamientos con sensibilidad disminuida que presenten CIMs \leq a 0.25 ug/ml o halos \geq 26mm.

Se eliminó el disco de ac. nalidíxico del protocolo de trabajo.

6. TIGECICLINA

Tigeciclina (TGC) es una gliciliciclina muy activa frente a ETB. Cabe aclarar que no presenta actividad sobre los miembros de la tribu Proteeae. Se debe informar sólo en los aislamientos provenientes de infecciones intraabdominales, de piel y partes blandas y neumonías de la comunidad, en el caso de gérmenes multirresistentes para los cuales no existan otras alternativas de tratamiento o en el caso que el médico lo solicite especialmente para tratamiento de infecciones polimicrobianas. La droga no debe utilizarse en pediatría salvo que no haya disponible otra opción terapéutica y solo para pacientes entre 8 y 17 años.

Ante las nuevas recomendaciones de EUCAST basadas en los parámetros PK/PD de TGC, desde el LNR sugerimos informar TGC en función de la especie bacteriana aislada utilizando la dosificación adecuada:

***E. coli* y *Citrobacter koseri* (EUCAST 2019)**

CIM: S \leq 0.5 μ g/ml, R \geq 1 μ g/ml (Dosis Estandar*)

DISCO: S \geq 18 mm, R \leq 17 mm sólo para *E. coli* (Dosis Estandar*)

Aislamientos con CIMs de hasta 1 μ g/ml se consideran Sensibles si se utilizan Altas Dosis**.

Otras ETB y *Acinetobacter spp.* (Altas Dosis**. No se dispone de puntos de corte para otros regímenes de dosificación)

CIM S \leq 1 μ g/ml, R \geq 2 μ g/ml



DISCO: S \geq 21 mm, I* 20-17 mm, R \leq 16 mm (Pasteran y cols. JIDC.2012) ***requiere CIM.**

* Dosis estándar: Dosis de carga (DC) 100mg + dosis de mantenimiento (DM) de 50mg/12hs

**Altas dosis: DC 200mg + DM de 100mg/12hs

Tribu Proteaeae:

***Morganella morgannii*, *Proteus spp.* y *Providencia spp.* se consideran resistentes naturales.**

Las cepas no sensibles a TGC ya no son motivo de derivación al LNR



IMPORTANTE:

REGISTRO DE DATOS DE TIGECICLINA Y MINOCICLINA: los halos de minociclina y tigeciclina **se deben** cargar en los campos originales correspondientes: MINO (minociclina) o TGC independientemente de la marca de MH que se utilice.

Aquellos laboratorios que dispongan de E-test, podrán usar esta herramienta para confirmación. Pero deberán tener presente que también este método tiene asociada una tendencia a dar valores de CIM 1 o 2 diluciones por encima de la CIM determinada por dilución en caldo

7. CEFEPIME SENSIBILIDAD DOSIS DEPENDIENTE

Para el informe de cefepime, referirse a la Tabla 2A-1 y Apéndices E y F del documento M100S29 del CLSI.

8. NUEVAS DROGAS

9.1. CEFTAZIDIMA / AVIBACTAM (CZA)

CZA solo se debe informar en aislamientos productores de KPC y OXA-48 like. El contenido de drogas del disco de CZA (10/4 ug) recomendado por el LNR es el propuesto por EUCAST.

Avibactam, es un nuevo inhibidor de β -lactamasa no β -lactámico que inactiva β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), cefalosporinasas de tipo AmpC y carbapenemasas de clase A (KPC) y algunas de clase D. Ceftazidima / avibactam muestra actividad contra ETB productoras de BLEE y AmpC y aquellas resistentes a carbapenemes incluyendo productores de KPC, OXA-163 (las OXA-48 nativas son sensibles a ceftazidima) pero no son activos frente a MBL.

En febrero de 2015, CZA fue aprobada por la FDA de Estados Unidos para el tratamiento de infecciones intra-abdominales complicadas (IIAc- en combinación con metronidazol), infecciones complicadas del tracto urinario (ITUc- incluyendo pielonefritis) en adultos con limitada o ninguna opción de tratamiento y para el tratamiento de neumonía intrahospitalaria y neumonía asociada a ventilador. En noviembre de 2018 fue aprobada para su uso en niños mayores de tres meses para IIAc e ITUc. En Europa y Argentina además fue aprobada para uso compasivo frente a cualquier tipo de infección con limitadas o nulas opciones de tratamiento.



	Disco (mm)			CIM (ug/ml)	
EUCAST *	10/4 ug	S ≥ 13	R ≤ 12		
CLSI **	30/20 ug	S ≥ 21	R ≤ 20	ATU:18-20 mm (Ed. 2019)	S ≤ 8/4 R ≥ 16/4***

* Luego de estudios de correlación realizado en el LNR (Pasteran et al. ECCMID 2019) entre CIM y discos con distinta carga, se recomienda el uso de los discos con carga 10/4ug utilizando los puntos de corte del EUCAST.

**No se recomienda el uso de los discos con carga 30/20 ug. Si sólo se dispone de ellos, informar únicamente los resultados sensibles y confirmar los resistentes con otra metodología.

***Según la experiencia realizada en el LNR, el método de gradiente y los paneles Phoenix, no pueden discriminar con exactitud los valores de CIM de 8 (sensible, wild-type) de los de 16 (resistente, primera mutación en KPC-2/3). Por ello, el LNR ha propuesto un Área de Incertidumbre Técnica (AIT) para los valores de CIMs de CZA de 16ug/ml. Si el panel de Phoenix o el método epsilométrico arrojan este valor de CIM, debe confirmarse el resultado resistente por otro método (preferentemente por difusión con disco de 10/4 ug, y si ellos no se encuentran disponibles en su institución, repetir el método empleado hasta que se disponga de otra metodología).

Los discos de CZA 10/4ug deben controlarse utilizando la cepa *K. pneumoniae* ATCC 700603 según EUCAST.

	Disco (mm)		CIM (ug/ml)	
CZA	10/4 ug	Valor deseable: 21	Rango: 18-24	Valor deseable: 0.5-1 Rango: 0.25-2

Derivar al LNR:

Los aislados KPC/OXA con RESISTENCIA CONFIRMADA a CZA. Descartar previamente la coproducción de MBLs.

9.2. CEFTOLOZANO / TAZOBACTAM (C/T)

Ceftolozano es una nueva cefalosporina que es menos hidrolizada por las cefalosporinasas de tipo AmpC de *P. aeruginosa*, es un sustrato débil para los sistemas de eflujo y no se ve afectado por la pérdida de OprD. La adición del inhibidor de β -lactamasa, tazobactam, amplía la actividad del ceftolozano para incluir la mayoría de las BLEE presentes en ETB. Debido a esto, se considera un ahorrador de carbapenemes en ETB. C/T no es activo frente a productores de carbapenemasas de clase A, B o D.

En 2014 FDA aprobó el uso de C/T para el tratamiento de infecciones intraabdominales complicadas (asociado a metronidazol) e infección urinaria. En 2019, se amplió la aprobación para la neumonía intrahospitalaria, especialmente la asociada a respiración mecánica.

Los puntos de corte de C/T recomendados por CLSI son los siguientes:

	Disco (mm)			CIM (ug/ml)		
CLSI	30/10 ug	S ≥ 21	I: 20-18 R ≤ 17	S ≤ 2/4	I: 4/4	R ≥ 8/4

Los discos de C/T 30/10 ug deben controlarse utilizando la cepa *K. pneumoniae* ATCC 700603 según CLSI (Tablas 5A-2 y 4A-2).



10. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

Si las tarjetas/paneles utilizados en su institución incluye la totalidad de las drogas del presente protocolo, no resultará necesario realizar pruebas adicionales, salvo en los casos que se requiera confirmar algún mecanismo.

SISTEMA PHOENIX:

- ✓ **PROBAR DISCOS:** C/T, CAZ/AVI 10/4ug
- ✓ En ETB productores de AmpC, si CRO y CAZ R o I: confirmar la presencia de BLEE o hiperproducción / derrepreción AmpC
- ✓ Si **ERT I o R** y **PTZ >64 µg/ml** probar disco de PTZ para screening de OXA-48 like

SISTEMA VITEK 2C:

- ✓ **PROBAR DISCOS:** C/T, CAZ/AVI 10/4ug, FOX, ERTA y TIGE. Probar FOS en aislamientos productores de carbapenemasas, interpretar con puntos de corte en tabla 1.
- ✓ En ETB no-Eco no-Kpn cambiar tipificación en forma temporaria a *K. pneumoniae* para acceder al resultado del test confirmatorio de BLEE.

AMBOS SISTEMAS:

- ✓ Si CTX/CRO, CAZ y FEP son ≤ 1 y BLEE + puede ser un falso positivo de BLEE: confirmar según punto 2 o anexo 1.
- ✓ Si FEP R, CRO/CTX S y CAZ S confirmar presencia de cefepimasa según anexo 1.
- ✓ En ETB no productores de AmpC Si FOX I o R confirmar presencia de AmpC plasmídica según anexo 1.
- ✓ Ver comentario sobre colistín en punto 4.
- ✓ Si **FOS o TGC I o R** confirmar el valor con discos: si da S ingresar solo el resultado del disco (borrar el resultado de CIM). Si TGC da I por disco hacer CIM por tira de gradiente (ingresar solo el valor de la tira de gradiente y borrar la CIM por método automatizado). **LO IMPORTANTE ES QUE FIGURE SOLO UN VALOR PARA CADA DROGA.**
- ✓ En 2019 CLSI cambió los puntos de corte de CIP para ETB a $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$ y $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ por lo que los ambos equipos automatizados tienen el rango de CIMs adecuado para informar las tres categorías (excepto para *Salmonella* sp).
- ✓ **AMINOGLUCOSIDOS Y CARBAPENEMASAS: en ETB productoras de carbapenemasas tipo MBL, frente a un resultado de sensibilidad a los aminoglucósidos con el método automatizado, se recomienda probar los respectivos discos de GEN y AKN e informar el resultado que dé el disco.** Esto se debe a la asociación entre las carbapenemasas y el mecanismo de resistencia a aminoglucósidos mediado por metilasas. La presencia de este último mecanismo confiere resistencia neta a estos ATM (CIMs mayores a 512ug/ml y halos de 6mm) pero en algunas ocasiones puede presentar falsa sensibilidad a GEN y/o AKN en los sistemas automatizados debido a la falta de diluciones más concentradas o por el fenómeno de la hetero-resistencia. Cuando se prueban por difusión estos aislamientos se puede observar la presencia de una cocarda o una pátina.



I.b. INFECCIONES URINARIAS NO COMPLICADAS

(Infección urinaria ambulatoria en pacientes sin patología de base)

Antibiograma mínimo (una placa y 1/2)

1. Ampicilina (3)
 2. Cefazolina (CFZ) (1)
 3. Ampicilina/sulbactam
 4. Trimetoprima/sufametoxazol (3)
 5. Ciprofloxacina (3)(4)
 6. Nitrofurantoina (2)(3)
 7. **Fosfomicina 200ug (5)**
 8. Colistín (2)(6) (OPTATIVO)
-

OPCIONAL: Sería muy útil ensayar las cefalosporinas de segunda generación orales (cefuroxima, CXM) o las de tercera generación oral (cefixima, FIX) en infección urinaria. Estas son alternativas dentro de los antibióticos β -lactámicos para aislamientos resistentes a cefalosporinas de primera generación o combinaciones con inhibidores de β -lactamasas como AMS o AMC. En el caso de ensayar estas drogas ubicar AMS (obligatoria en el protocolo) a 25-30 mm de centro a centro del disco de CXM y/o FIX como "screening" de BLEE en aislamientos de IU de la comunidad. Por el momento y hasta que conozcamos la sensibilidad y especificidad de este ensayo, cualquier deformación (efecto huevo) del halo de CXM o FIX debe confirmarse para la presencia de BLEE por los métodos habituales.

Gentamicina es otra droga que se podría ensayar por su utilización para el tratamiento de este tipo de infecciones y además es útil como marcador epidemiológico de resistencia. Si se ensaya esta droga **sistemáticamente** (u otras) además de las correspondientes al antibiograma mínimo, se debe cargar los resultados de las mismas en la base de datos. **No se deben cargar si se prueba de forma ocasional o sesgada.**



IMPORTANTE: Para los aislamientos que presenten resistencia a las drogas del antibiograma mínimo recomendado para gérmenes de infección urinaria no complicada, debe completarse la sensibilidad con los antibióticos del antibiograma mínimo designado para infecciones hospitalarias por ETB (tres placas, ver arriba). Introducir a la base de datos los resultados del antibiograma adicional.

1. CEFAZOLINA

1.1. INFORME DE CEFALOSPORINAS ORALES

Según CLSI 2014: "Cefazolina (cefalosporina de primera generación, CFZ) es mejor que cefalotina (CTN) para predecir la sensibilidad a cefalosporinas orales (cefactor, cefuroxima, cefalexina, cefproxilo, cefdinir y loracarbef) en infección urinaria baja no complicada (IUBNC) producida por *Escherichia coli*, *Klebsiella spp* y *Proteus mirabilis*". Luego del ensayo comparativo entre los discos de CTN y CFZ realizado en 2015 con los datos aportados por la Red, se demostró que CTN sobreestima la resistencia a las cefalosporinas orales en un 14,6 % (7,1 CFZ R vs 21,7% CTN R) si se considera solo los aislamientos resistentes y en un 35,8% (7,1 CFZ R vs 42,9 % CTN no S) incluyendo los intermedios a CTN. Debido a esta evidencia local, se decide suspender la prueba del



disco de CTN en ETB y continuar solamente con el disco de CFZ según lo recomendado por CLSI.

En IUBNC se utiliza para interpretar únicamente el punto de corte urinario (CFZ $S \geq 15/R \leq 14$ mm). Según el valor obtenido se debería informar:

1. "El aislamiento en estudio es sensible a las cefalosporinas orales (cefactor, cefdinir, cefpodoxima, cefprozilo, cefuroxima, cefalexina y loracarbef)* cuando se utilizan como tratamiento de IUBNC exclusivamente". ($S \geq 15$ mm)
2. "El aislamiento en estudio es resistente a las cefalosporinas orales (cefactor, cefprozilo, cefalexina y loracarbef)* cuando se utilizan como tratamiento de IUBNC exclusivamente". ($R \leq 14$ mm)

***elegir de estas cefalosporinas orales solo las que se utilizan en su hospital.**



NOTA 1: CEFAZOLINA ES UN BUEN PREDICTOR DE SENSIBILIDAD A CEFALOSPORINAS ORALES EN IUBNC. ESTA DROGA NO TIENE PRESENTACIÓN ORAL POR LO TANTO NO SE DEBE INFORMAR LA SENSIBILIDAD A CFZ EN IUBNC, sino sensibilidad o resistencia a las CO utilizadas en su hospital.

NOTA 2: Si el aislamiento resulta resistente a CFZ, puede haber sensibilidad a cefactor, cefuroxima y cefnidir por lo que no se incluyen estas drogas en el reporte de resistencia y si se van a utilizar se deben probar individualmente e informar según como den (su prueba es de carácter optativo).

1.2. DETECCIÓN DE BLEE o AmpC

En aislamientos de E. coli, el alto nivel de resistencia a CFZ (halos de 6mm) es un muy buen predictor de resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido mediada por producción de BLEE, AmpC plasmídico y por carbapenemasas. Una excepción a esta regla son las cepas productoras de OXA-48-like, inclusive la OXA-163, que en algunos casos pueden cursar con S a CFZ. En general el mismo fenómeno se observa para aislamientos de P. mirabilis, K. pneumoniae y Citrobacter koseri.

Todos los halos de CFZ entre 7 y 14mm, en E. coli, Klebsiella spp, Proteus mirabilis y Citrobacter koseri, también deberán ser confirmados por la probable presencia de BLEE o AmpC plasmídico.

En base a los datos recolectados por la Red WHONET sobre 210 E. coli con halos entre 7 y 14mm, pudimos determinar que el 20% de los aislamientos eran productores de BLEE o AmpC plasmídica (con halos mayormente entre 7 y 12mm), mientras que en los halos entre 13 y 14mm principalmente se encuentran las cepas hiperproductoras de BLEA. Pero como una medida conservadora, hasta coleccionar más experiencia, se recomienda realizar la confirmación de BLEE/AMPC-pl utilizando discos de CTX-AMC-CAZ y FOX-APB-CTX a todos los aislamientos no sensibles a CFZ (≤ 14 mm)

De confirmarse alguno de estos dos mecanismos completar el antibiograma de infecciones hospitalarias por ETB.



IMPORTANTE: En IUBNC llenar siempre el campo de BLEE. Si CFZ fuera sensible completar como "-". Si CFZ fuera resistente consignar el resultado de la confirmación de la BLEE con un "+" o "-" según sea el caso.



NOTA: En el caso de confirmar la presencia de BLEE en una IUBNC, informar las cefalosporinas de 2ª o 3ª generación como dan en el ATB según los puntos de corte correspondientes y si se observa sensibilidad a dichas drogas agregar al pie del informe:



"Aislamiento productor de BLEE, probable éxito de tratamiento en IUBNC". El resultado de la detección de BLEE para esta patología tiene valor epidemiológico.

2. RESISTENCIAS NATURALES

Proteus spp., *M.morganii*, *Providencia* spp. y *Serratia* spp. presentan resistencia natural a los nitrofuranos y colistín.

3. NOTA INTERPRETACION INTERMEDIO

Debido a la alta concentración que estos ATM alcanzan en orina, ante aislamientos con sensibilidad intermedia, informar "I" y agregar en el informe "Probable éxito de tratamiento en infección urinaria baja no complicada"

4. CIPROFLOXACINA

En 2019 CLSI modificó los puntos de corte de CIP y LVX para ETB y *Pseudomonas aeruginosa*. Según estudios realizados en el LNR, los nuevos puntos de corte detectan más del 90% de los aislamientos que presentan la primera mutación en QRDR o mecanismos plasmídicos de R a FQ (PMQR) por lo que se discontinúa la búsqueda de mecanismos en aislamientos con sensibilidad disminuida que presenten CIMs \leq a 0.25 ug/ml o halos \geq 26mm. Se elimina el disco de ac. nalidíxico del protocolo de trabajo.

En los últimos años se han multiplicado las publicaciones que asocian a CIP con reacciones adversas graves incapacitantes y potencialmente irreversibles que pueden ocurrir simultáneamente en el mismo paciente. Las reacciones adversas más frecuentes incluyen tendinitis, rotura de tendones, artralgia, mialgia, neuropatía periférica y efectos del sistema nervioso central (alucinaciones, ansiedad, depresión, insomnio, dolores de cabeza severos y confusión). Estas reacciones pueden ocurrir dentro de horas o semanas después de comenzar el tratamiento en pacientes de cualquier edad o sin factores de riesgo preexistentes durante el tratamiento de infecciones bacterianas leves o moderadas. La FDA (Food and Drugs Administration) de USA y la EMA (European Medicines Agency) han publicado advertencias a este respecto y recomiendan evitar el uso de CIP para el tratamiento de infecciones bacterianas leves o moderadas, a menos que no se puedan usar otros medicamentos antibacterianos comúnmente recomendados para estas infecciones.

5. FOSFOMICINA

Debido a las recomendaciones acerca de la restricción de la CIP para el tratamiento de infecciones leves o moderadas, muchas guías de práctica clínica incluyen dentro de las drogas de primera línea a FOS para el tratamiento de las IUBNC. En este marco a partir de 2020 incluiremos FOS en el antibiograma de la IUBNC para poder contar con datos de vigilancia nacional para este ATM.

CLSI definió puntos de corte urinarios para el disco de FOS de 200ug solo para *E. coli*, por eso recomendamos el uso de esta carga y tenerlo en cuenta en futuras compras para poder unificar los datos de la red. En el caso de



tratarse de otras ETB distintas de *E. coli*, se deben utilizar los puntos de corte de FOS 200ug de uso sistémico recomendados por el LNR. En caso de poseer discos de 50ug también se deben usar los puntos de corte sistémicos recomendados por el LNR para esa carga de disco (ver Tabla 1. Puntos de corte no incluidos en CLSI).

6. POLIPEPTIDOS

Debido a que los aislamientos R a polipéptidos por mecanismos plasmídicos en Argentina, son en su gran mayoría de infecciones urinarias de la comunidad se propone en forma OPTATIVA la inclusión de COLISTIN en la placa de infecciones urinarias no complicadas sólo como screening de este mecanismo.

Derivar al LNR:

- los aislamientos de *E. coli* con CIM a COL $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ o halo $\leq 11 \text{ mm}$, o método de screening positivo,
- cualquier ETB (no *E. coli*) con resistencia adquirida a COL (CIM a COL $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ o halo $\leq 11 \text{ mm}$ o método de screening positivo) sin resistencia a carbapenemes (distinta de la R intrínseca del germen) Estos criterios serán actualizados a medida que se avance en el entendimiento de la epidemiología local (ver reglas de derivación vigentes en www.antimicrobianos.com.ar).

7. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

A pesar que la cantidad de antimicrobianos exigidos por el protocolo en las IUBNC es menor que la de los paneles automatizados, los que utilizan estos sistemas deben cargar la totalidad de las CIMs que proporcionan los paneles.

SISTEMA PHOENIX:

- ✓ Si CFZ $> 8 \mu\text{g/ml}$ (en Panel 406, sin rango extendido urinario (CFZ: 1-8 $\mu\text{g/ml}$)) PROBAR DISCO DE CFZ y borrar el valor de CIM, DEJAR SOLO EL VALOR DE DISCO.
- ✓ **Probar el Panel 407, con rango extendido urinario (CFZ: 2-16 $\mu\text{g/ml}$), de esta manera no es necesario probar el disco de CFZ.**
- ✓ **Si por alguna razón se utiliza el panel 406** (sin rango extendido urinario (CFZ: 1-8 $\mu\text{g/ml}$)) **para IUBNC**, si CFZ $> 8 \mu\text{g/ml}$ PROBAR DISCO DE CFZ y borrar el valor de CIM, DEJAR SOLO EL VALOR DE DISCO.

SISTEMA VITEK 2C:

- ✓ **PROBAR DISCO: CFZ. Y FOS**
Durante 2020 probaremos CFZ, inclusive en aquellos Hospitales que utilicen las tarjetas con cefalexina (ver Tabla 1. Puntos de corte distintos al CLSI).



II. ENTEROPATOGENOS

II.a. *Salmonella sp.* y *Shigella spp.*

EL ORDEN DE LAS DROGAS NO INDICA LA POSICIÓN EN QUE DEBERAN COLOCARSE EN LAS PLACAS

Antibiograma de mínima sólo para diarreas (una placa y media)

1. Ampicilina
2. Trimetoprima /sulfametoxazol
3. Ciprofloxacina (4)
4. Cefpodoxima (1)
6. Fosfomicina (5)
7. Nitrofurantoína (sólo para *Shigella*)
8. Azitromicina (2) (para *Salmonella* y *Shigella flexneri*)
9. Colistín (3) (OPTATIVO)



NOTA: En el caso que se trate de una infección sistémica por *Salmonella sp.*, ensayar las drogas correspondientes al antibiograma mínimo (tres placas) establecido para infecciones hospitalarias por ETB.



IMPORTANTE: Según el consenso de SADEBAC para ETB, informar el resultado de las pruebas de sensibilidad siempre que se trate de un aislamiento de *Salmonella Typhi*. En los casos de infecciones causadas por *Salmonella* no *Typhi* informar el resultado de la prueba de sensibilidad sólo en los siguientes casos:

- Localizaciones extraintestinales
- Materia fecal en niños menores de 6 meses, gerontes, inmunocomprometidos y pacientes con prótesis.

1. CEFPODOXIMA

Cefpodoxima (CPD) no debe informarse, se evalúa como "screening" de β -lactamasas de espectro extendido y resistencia a cefalosporinas de tercera generación. En caso de presentarse no sensibilidad a esta droga (halos ≤ 21 mm) se debe confirmar la presencia de BLEE. De obtenerse un resultado positivo agregar "+" (o "-" en el caso de ser negativo) en el casillero de BLEE. Para la sospecha de BLEE en *Salmonella spp* y *Shigella spp.*, utilizar los puntos de corte especiales recomendados por CLSI para *E. coli*, *Klebsiella spp.* y *P. mirabilis* frente a CTX y CAZ. Evaluar también la sensibilidad a FOX con el objetivo de diferenciar la resistencia a cefalosporinas de 3ª generación mediada por BLEE de la mediada por enzimas tipo AMP-C plasmídico.



IMPORTANTE: llenar siempre el campo de BLEE. Si CPD fuera sensible completar como "-". Si CFZ fuera resistente consignar el resultado de la confirmación de la BLEE con un "+" o "-" según sea el caso.



Derivar al LNR:

Shigella spp. Con resistencia a cefalosporinas de tercera generación.

Si se detectara un aislamiento resistente repetir la tipificación y la sensibilidad. En caso de confirmarse los resultados, enviarlo al LNR para su estudio.

2. AZITROMICINA

Azitromicina comenzó a utilizarse a nivel mundial como alternativa de tratamiento de las infecciones extraintestinales por *Salmonella* spp. Dado que *Salmonella* en general presenta inhibición parcial para esta droga, pueden presentarse zonas de inhibición no definidas o doble halo, por lo tanto, en el caso de realizar pruebas de sensibilidad por el método de difusión (por discos o con tiras de gradiente), la lectura se debe realizar con luz reflejada teniendo en cuenta la inhibición completa. Los puntos de corte de CLSI para *Salmonella* Thypi y azitromicina pueden extrapolarse a todas las *Salmonellas* spp. (según datos del LNR).

***Shigella* spp.:** En 2016, se establecieron puntos de corte epidemiológicos (ECV, por epidemiological cutoff value) de disco y CIM para *Shigella flexneri* y sólo de CIM para *Shigella sonnei* (ver Tabla 2A-2 y apéndice G, M100 Ed28). Por el momento NO se puede extrapolar el valor de ECV de disco para *S. sonnei*, hacen falta más estudios in vitro para determinar el ECV de disco para esta especie.

El ECV es un valor de CIM que separa las poblaciones bacterianas en aquellas con y sin mecanismo de resistencia adquirido y o mutaciones, basados solamente en su fenotipo. Debido a que sólo tiene en cuenta valores de sensibilidad in vitro y no se tiene en cuenta su correlación con la clínica, no se puede informar una interpretación clínica de S, I o R utilizando un ECV.

Para el caso de *S. flexneri*, si el valor de halo en mm es mayor o igual al ECV o el valor de CIM es menor o igual al ECV, el aislamiento corresponde a un fenotipo salvaje (sin mecanismo de resistencia) por lo que podría informarse como "sensible". Si por el contrario el aislamiento posee un halo de azitromicina menor al ECV o un valor de CIM mayor al ECV, el aislamiento corresponde a un fenotipo NO salvaje (con algún mecanismo de resistencia) pero se desconoce si este valor de CIM o disco desplazado de la distribución normal de las cepas salvajes tiene una implicancia clínica y puede conducir a una falla de tratamiento. En este caso, debería repetirse la metodología para confirmar el valor y de confirmarse, una recomendación de informe sería: "Los valores de sensibilidad a azitromicina de este aislamiento están por fuera de los esperados a una cepa salvaje (sin mecanismo de resistencia) y se desconoce su implicancia clínica. De ser posible se debería elegir otra opción de tratamiento y consultar con el equipo de infectología)"

Para *S. sonnei* debería hacerse la misma consideración pero sólo con el valor de CIM.

Derivar al LNR:

La resistencia a azitromicina en Salmonella spp. y Shigella spp. es un mecanismo emergente. Si se detectara un aislamiento NO salvaje, repetir la sensibilidad. En caso de confirmarse los resultados, enviarlo al LNR para su estudio.

3. POLIPEPTIDOS

Se propone en forma OPTATIVA la inclusión de COLISTIN en la placa de aislamientos de coprocultivos.



4. CIPROFLOXACINA

En los casos de infecciones por *Salmonella* spp. que ameriten informar el antibiograma recordar interpretar el disco de ciprofloxacina con los puntos de corte específicos para esta especie (ver Tabla 2A CLSI vigente).

5. FOSFOMICINA

Si bien en CLSI no hay puntos de corte específicos Salmonella y Shigella, usaremos los puntos de corte sistémicos de la Tabla 1. Si bien contamos con puntos de corte para discos de 50ug y 200ug, recomendamos para futuras compras utilizar los discos de 200ug para unificar los datos de la Red.

6. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

A pesar de que la cantidad de antimicrobianos exigidos por el protocolo de enteropatógenos es menor que la de los paneles automatizados, los que utilizan estos sistemas deben cargar la totalidad de las CIMs que proporcionan los paneles. Algunos laboratorios optan por no ensayar el método automatizado y largar solo la placa de discos recomendados en el protocolo.

SISTEMA PHOENIX:

- ✓ Salmonella: **PROBAR AZI**
- ✓ Salmonella: si CIM de CIP $\leq 0,12 \mu\text{g/ml}$, probar por difusión para poder categorizarla correctamente (punto de corte S $\leq 0.06 \mu\text{g/ml}$, las tarjetas carecen de la concentración $0,06 \mu\text{g/ml}$)
- ✓ Shigella: **PROBAR AZI** (*S.flexnerii*) y NIT

SISTEMA VITEK 2C:

- ✓ Salmonella: **PROBAR AZI y FOS**
- ✓ Salmonella: si CIM de CIP $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$, probar por difusión para poder categorizarla correctamente (punto de corte S $\leq 0.06 \mu\text{g/ml}$, las tarjetas carecen de la concentración $0,06$ y $0,125 \mu\text{g/ml}$)
- ✓ Shigella: **PROBAR AZI** (*S.flexnerii*) y FOS

II.b. *Campylobacter* spp.

Se recomienda un antibiograma de mínima para aquellos que realicen aislamiento de *Campylobacter* spp. siendo su realización no obligatoria. La metodología utilizada y los puntos de corte son los que recomienda CLSI en la Tabla 5 del documento M45 (3era edición).

Drogas sugeridas para coprocultivos

1. Eritromicina
2. Ciprofloxacina
3. Tetraciclina

En el caso de infecciones extraintestinales por *Campylobacter* spp. debe recurrirse a otras drogas con acción sistémica como las que se enumeran



abajo. Las cefalosporinas de tercera generación no son una buena opción para este germen debido a problemas de permeabilidad. No se cuenta con puntos de corte para estos antimicrobianos por lo que se utilizan los de ETB de la Tabla 2A, según lo recomendado por la literatura. Los halos obtenidos en general son muy grandes por lo que se recomienda colocar hasta 4 discos por placa.

Drogas sugeridas para infecciones sistémicas

1. Amoxicilina / ác. Clavulánico
2. Cefepima
3. Imipenem
4. Gentamicina
5. Ciprofloxacina
6. Cefalotina (1)
7. Ac. Nalidíxico (1)

(1) Estas drogas pueden probarse sólo con fines de identificación y se interpreta como resistente si hay ausencia de halo. Debido a la alta tasa de resistencia adquirida a quinolonas en *C. jejuni* y *C. coli* el disco de ác. nalidíxico no contribuye en la tipificación, pero en el caso de infecciones sistémicas donde el *C. fetus* adquiere protagonismo la resistencia a ác. nalidíxico y la sensibilidad a ciprofloxacina orienta en la identificación de esta especie.

II.c. *Vibrio cholerae*

Drogas acordadas

1. Tetraciclina
2. Ampicilina
3. Trimetoprima/Sufametoxazol
4. Cloranfenicol
5. Nitrofuranos(1)
6. Eritromicina(2)
7. Norfloxacina(1)

(1) Utilizar puntos de corte de ETB.

(2) Utilizar el punto de corte de *Staphylococcus* spp.



III. OTROS BACILOS GRAM NEGATIVOS

III.a. *P. aeruginosa*

Antibiograma de mínima (dos placas, **ver figura 4**)

- | | |
|-------------------------|---|
| 1. Gentamicina | 7. Amicacina |
| 2. Ceftazidima (5) | 8. Piperacilina/tazobactam |
| 3. Cefepime | 9. Aztreonam |
| 4. Imipenem (2) | 10. EDTA(2) |
| 5. Ciprofloxacina | 11. Ceftazidima/ac. Clavulánico (6) |
| 6. Meropenem (2) | 12. Ceftolozano/tazobactam (8) |
| | 13. Cefazidima/avibactam -10/4 ug- (8) |
| Colistín (optativo) (1) | |

EL ORDEN DE LAS DROGAS NO INDICA LA POSICIÓN EN QUE DEBERAN COLOCARSE EN LAS PLACAS

III.b. *Acinetobacter spp.*

Antibiograma de mínima (dos placas, **ver figura 5**)

- | | |
|------------------------|------------------------------------|
| 1. Gentamicina | 7. Amicacina |
| 2. Ceftazidima (5) | 8. Piperacilina/tazobactam |
| 3. Cefepime | 9. Ampicilina/sulbactam (3) |
| 4. Imipenem (2) | 10. Minociclina (4) |
| 5. Ciprofloxacina | 11. Trimetoprima-sulfametoxazol |
| 6. Meropenem (2) | 12. EDTA (2) |
| | 13. Ceftazidima/ac. Clavulánico(6) |
| Colistín (Optativo)(1) | 14. Tigeciclina (7) |

EL ORDEN DE LAS DROGAS NO INDICA LA POSICIÓN EN QUE DEBERAN COLOCARSE EN LAS PLACAS

1. POLIPEPTIDOS

La prueba del disco de colistín queda como optativo con fines de identificación o como screening de mecanismos de resistencia en aquellos aislamientos en que no se requiere de colistín como opción de tratamiento.

En infecciones por cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* o *Acinetobacter spp.* y el equipo médico decida utilizarla COL como tratamiento, los laboratorios que utilicen discos deben evaluar la actividad de polimixina ó colistín por el método de dilución (microdilución o macrodilución) o algún método alternativo recomendado por el Laboratorio de Referencia.

Ver en <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Boletin-PCC-NAC-Nro.5-Metodos-de-Evaluacion-Sensibilidad-a-POLIMIXINAS-Sep-20171.pdf>

Aclaración: En el documento M100-S27 CLSI 2017 se han eliminado los puntos de corte



de difusión para *P. aeruginosa* y se han unificado los puntos de corte de CIM de *Acinetobacter* complejo *baumannii* y *P.aeruginosa* ($S \leq 2 \mu\text{g/ml}$, $R > 4 \mu\text{g/ml}$).

Derivar al LNR:

- *Pseudomonas aeruginosa* o *Acinetobacter* spp. con CIM a colistina $\geq 4 \mu\text{g/mL}$
Estos criterios serán actualizados a medida que se avance en el entendimiento de la epidemiología local (ver reglas de derivación vigentes en:
<http://antimicrobianos.com.ar/2017/11/reglas-de-derivacion-2017/http://antimicrobianos.com.ar/2017/11/reglas-de-derivacion-2017/http://antimicrobianos.com.ar/2017/11/reglas-de-derivacion-2017/>).

1. CARBAPENEMES:

Cabe resaltar la recomendación de evaluar la actividad de los dos carbapenemes (MER e IMP) en todos los aislamientos ya que no siempre la resistencia es cruzada (especialmente en *P. aeruginosa*). Si sólo se evalúa la actividad de uno de ellos, esta no se debe extrapolar al otro.

Para los que cuentan con aplicador, colocar el disco de EDTA, entre los discos de imipenem y meropenem, a 1 cm del borde del disco de imipenem o 1.5 de centro a centro. Ver flujograma para detección de carbapenemasas en *Pseudomonas* spp. en figura 5.

En el caso que sea necesario repetirlo, ubicarlos manualmente entre ambos discos a un centímetro de cada uno de ellos, lo mismo que para los que colocan los discos manualmente.

En *Acinetobacter* spp., debido a la gran cantidad de aislamientos extremadamente-resistentes, es muy difícil diferenciar la R a carbapenemes causada por la hiperproducción de carbapenemasas del tipo OXA (mecanismo más frecuente) de la resistencia debido a metalcarbapenemasas del tipo NDM). Este último mecanismo, debido a su gran capacidad de diseminación inter e intraespecies, debe ser detectado e informado oportunamente para establecer medidas de control de infecciones y evitar su diseminación. Para esto es muy útil incorporar los **métodos colorimétricos** (BC test o CARBA NP-Direct) que permiten detectar las carpapenemasas adquiridas **cuando se positivizan dentro de la primera hora. Los usuarios de las tarjetas CPO, podrán utilizar la información que les brinda este sistema para diferenciar las MBLs (CPO clase B) de las clase D (CPO clase D o CPO+ sin clase)**

2. REGISTRO EN WHONET DE CEPAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS

P. aeruginosa o *Acinetobacter* spp. con sospecha de carbapenemasa se deben confirmar según el algoritmo de sospecha de carbapenemasas vigente (<http://antimicrobianos.com.ar/category/algoritmos-manuales-protocolos/>).



IMPORTANTE:

TODOS LOS BGNs CON SOSPECHA DE CARBAPENEMASA DEBEN TENER COMPLETOS LOS CAMPOS: Resistencia enzimática y Mecanismo de Resistencia a Carbapenemes. (ver punto 5.3 de ETB)

Se debe consignar en el campo "MECANISMO DE RESISTENCIA A LOS CARBAPENEMES" el mecanismo inferido por el resultado de las pruebas confirmatorias de todos los aislamientos QUE ENTREN EN EL ALGORITMO DE SOSPECHA DE CARBAPENEMASA. Las



opciones dentro de este campo son:

- **Tipo KPC: incluye las *P. aeruginosa* no inhibibles por EDTA con:**
 - **halo de IMI y MER de 6mm y**
 - **halo de ATM de 6mm y**
 - **TMHT positivo / método colorimétrico positivo y/o**
 - **DCM-Brit con fenotipo KPC (o kits con discos de CLOXA 3000mg) y/o**
 - **PCR / inmunocromatografía positiva para KPC y/o**
 - **CPO+ indicativo de clase A (ver figuras 11 y 12)**
- **MBL: incluye las cepas**
 - **inhibibles por EDTA/dipicolínico y/o**
 - **método de eCIM positivo (solo para Pae) y/o**
 - **PCR/ inmunocromatografía positiva para MBL y/o.**
 - **CPO+ indicativo de clase B (ver figuras 11 y 12)**
- **Tipo OXA: NO informar las OXA propias y adquiridas de Acinetobacter.**
- **Carbapenemas: incluye *P. aeruginosa* con método colorimétrico positivo / THT positivo o *Acinetobacter spp.* con método colorimétrico positivo (leído dentro de la primera hora), con inhibidores negativos o sin resultado.**
- **Combinación de carbapenemas: incluye *P. aeruginosa* o *Acinetobacter spp* en los que por PCR o inmunocromatografía se haya determinado la presencia de más de una carbapenemasa.**

Aclaración: Los resultados de métodos colorimétricos para *Acinetobacter* que se informan son siempre los que resultan en la primera hora de incubación. En esta primera hora dan positivas las carbapenemasas adquiridas (tipo MBL), luego de la primera hora comienzan a dar positivas carbapenemasa tipo OXA propias de *Acinetobacter*.

El mCIM y el eCIM sólo fueron estandarizado para *P. aeruginosa*.

3. SULBACTAM

El sulbactam tiene actividad *per se* sobre *Acinetobacter spp.*

4. MINOCICLINA

Los aislamientos multirresistentes de *Acinetobacter spp.* suelen presentar sensibilidad a MIN pero no a tetraciclina.

5. CEFTAZIDIMA

Colocar el disco de CAZ al lado del de IMP (efecto huevo puede indicar presencia de BLEE inhibible por imipemen como por ej. GES)

6. CEFTAZIDIMA /AC. CLAVULANICO

Para screening de BLEE. El disco de CAC puede presentar resultados falsos positivos en



Acinetobacter. Confirmar los resultados positivos con sinergia AMC-CAZ 1,5 cm centro a centro.

7. TIGECICLINA

TGC es una gliciliciclina muy activa frente a *Acinetobacter* spp pero inactiva sobre *P. aeruginosa*. **CLSI no cuenta con puntos de corte para *Acinetobacter*, se recomienda utilizar los puntos de corte del EUCAST (S≤1ug/ml R≥2ug/ml) utilizando altas dosis para el tratamiento (ver Sección Ia, punto 7).**

8. NUEVAS DROGAS

8.1. CEFTOLOZANO / TAZOBACTAM (C/T)

Ceftolozano es una nueva cefalosporina que es menos hidrolizada por las cefalosporinasas de tipo AmpC de *P. aeruginosa*, es un sustrato débil para los sistemas de eflujo y no se ve afectado por la pérdida de OprD. La adición del inhibidor de β-lactamasa, tazobactam, amplía la actividad del ceftolozano para incluir la mayoría de las BLEE que producen los bacilos Gram negativos (excepto las de tipo GES y PER cuando son producidas por *Pseudomonas aeruginosa*). Es activo frente a *P. aeruginosa* resistentes a los carbapenemes mediada por impermeabilidad y eflujo. C/T no es activo frente a productores de carbapenemasas de clase A, B o D.

En 2014 FDA aprobó el uso de C/T para el tratamiento de infecciones intraabdominales complicadas e infección urinaria **y en 2019 para las neumonías hospitalarias.**

CLSI	Disco (mm)			CIM (ug/ml)		
	30/10 ug	S ≥ 21	I: 20-17	R ≤ 16	S ≤ 4/4	I: 8/4

Los puntos de corte de C/T recomendados por CLSI son los siguientes:

Ceftolozano/tazobactam puede infundirse en forma continua, lo que permite alcanzar concentraciones séricas de ceftolozano (pero no de tazobactam) de hasta 16-32 ug/ml según la función renal del paciente.

8.2. CEFTAZIDIMA / AVIBACTAM (CZA)

Avibactam, es un nuevo inhibidor de β-lactamasa no β-lactámico que inactiva β-lactamasas de espectro extendido (BLEE), cefalosporinasas de tipo AmpC y carbapenemasas de clase A (KPC) y algunas de clase D. Ceftazidima/avibactam muestra actividad contra *P. aeruginosa* productoras de BLEE tipo GES y aquellas con carbapenemasas del tipo KPC, pero no son activos frente a productores de metalocarbapenemasas y BLEE tipo PER. La actividad es variable en aislamientos hiperproductores de mecanismos de eflujo.

EUCAST + ATU*	Disco (mm) 10/4 ug			CIM (ug/ml)	
	10/4 ug	S ≥ 17	ATU*: 15-16 requiere CIM	R ≤ 14	S ≤ 8/4

* Luego de un análisis de correlación realizado en el LNR (Pasteran et al ECCMID 2019) entre CIM y discos con distinta carga, se recomienda el uso de los discos con carga 10/4ug utilizando una modificación de los puntos de corte del EUCAST con el agregado de un Area de Incertidumbre Técnica (ATU,



por sus siglas en inglés **área of technical uncertainty**) para los valores de 15 y 16mm. Halos de 15 y 16 mm deben ser confirmados por un método que determine CIM. Esta ATU ha sido definida en función de la epidemiología local, difiere de la ATU del EUCAST (16-17mm). ATU podrá ser modificada durante el transcurso de 2020 cuando se evalúe el desempeño de las distintas marcas de discos comerciales.

No se recomienda el uso de los discos con la carga utilizada por CLSI (30/20ug) para *P. aeruginosa*.

Ver esquema de colocación de los discos para *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. en figura 5 y 6.

9. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

AMBOS SISTEMAS:

- ✓ En *P. aeruginosa* **PROBAR: ATM, C/T y CZA 10/4ug**
- ✓ En *Acinetobacter* spp. **PROBAR MINO**
- ✓ **Confirmar los resultados de S a COL** (ídem que para ETB)
- ✓ En *P. aeruginosa* **COL R** confirmar por algún método recomendado por el LNR, son muy infrecuentes y generalmente se trata de contaminaciones.

III.c. *Aeromonas* spp.

1. Imipenem (1)	9. Amicacina
2. EDTA	10. Tetraciclina
3. Meropenem	11. Cefotaxima
4. Ciprofloxacina (2)	12. Amoxicilina / ác. clavulánico
5. Trimetoprima-sulfametoxazol (2)	13. Ceftazidima
6. Gentamicina	14. Cefepime

El género *Aeromonas* es uniformemente resistente a ampicilina, amoxicilina/clavulánico y cefazolina. Las especies de *Aeromonas* poseen múltiples β -lactamasas (todas las clases), algunas inducibles, y como en otros géneros, la resistencia a cefalosporinas puede aparecer durante el tratamiento con β -lactámicos. La resistencia a carbapenemes se debe a la presencia de *cphA* (carbapenem hydrolysing *Aeromonas*) que es una MBL que se encontraría en las especies *A. dhakensis*, *A. hydrophila*, *A. veronii*, *A. jandaei*, y *A. salmonicida*, pero no en *A. caviae*. Debido a que la resistencia a carbapenemes puede no evidenciarse en el antibiograma de rutina pero aun así conducir a fallas de tratamiento in vivo, se recomienda tipificar a nivel de especie (o complejo) e informar como resistencia natural a carbapenemes en aquellas especies que poseen la enzima *cphA*; o bien buscar la presencia de la carbapenemasas por algún método fenotípico como se indica en (1).

(1) Si los carbapenemes tienen halos de sensibilidad y no se cuenta con la identificación a nivel de especie (o complejo), para poder informar S se debe descartar la presencia de carbapenemasa por algún otro método fenotípicos como Blue Carba test, el Carba NP-Direct, o Triton-Hodge-Test. Frente a un resultado positivo se desaconseja



el uso de carbapenemes y cefalosporinas para tratamiento, independientemente de su sensibilidad in vitro, en especial en infecciones de alto inóculo.

(2) CLSI recomienda como agentes para probar en primera instancia: C3G, C4G, FQ, SXT; pero debido a la presencia de β -lactamasas cromosómicas en este género es prudente restringir el informe de sensibilidad de las cefalosporinas de espectro extendido sobre todo en infecciones severas como las de punto de partida de piel y partes blandas donde el efecto inóculo puede generar fallas de tratamiento si se utilizan estos antimicrobianos.

(3) solo se prueba AMC entre CAZ y CTX para búsqueda de BLEE.

III.d. *Burkholderia cepacia*

Antibiograma (una placa)

- | | |
|----------------|--------------------------------|
| 1. Ceftazidima | 3. Minociclina |
| 2. Meropenem | 4. Trimetoprima-sulfametoxazol |
| | 5. C/T (opcional)* |
| | 6. CZA(opcional)* |

** Requieren de métodos que determinen la CIM. No se disponen a la fecha de puntos de corte para la interpretación de las categorías de estas drogas en B. cepacia. Se sugiere la toma de decisiones basados en los respectivos parámetros PK/PD*

III.e. *Stenotrophomonas maltophilia*

Antibiograma (una placa)

- | | |
|------------------|--------------------------------|
| 1. Minociclina | 3. Trimetoprima-sulfametoxazol |
| 2. Levofloxacina | |

IV. COCOS GRAM POSITIVOS

IV.a. *Staphylococcus spp.*

Antibiograma de mínima (excepto IU)

2 placas

- | | |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| 1. Ceftarolina | 8. Minociclina |
| 2. Vancomicina (1) | 9. Ciprofloxacina |
| 3. Eritromicina (2) | 10. Rifampicina |
| 4. Clindamicina (2) | 11. Tigeciclina (7) |
| 5. Trimetoprima/ sulfametoxazol | 12. Linezolid (4) |
| 6. Gentamicina | 13. Cefoxitina (3, 5) (no informar) |
| 7. Ceftobiprole (8) | |



Antibiograma Infección urinaria (1 placa) (6)

1. Ceftarolina
2. Trimetoprima/ sulfametoxazol
3. Ciprofloxacina
4. Nitrofuranos
5. Novobiocina
6. Cefoxitina (3)
7. Gentamicina (optativo)

EL ORDEN DE LAS DROGAS NO INDICA LA POSICIÓN EN QUE DEBERAN COLOCARSE EN LAS PLACAS (ver ERI – CLI)

En 2019 se eliminaron los discos de teicoplanina y ác. fusídico de la placa de *Staphylococcus* spp.

⚠ IMPORTANTE: Tener en cuenta que se han reportado aislamientos no sensibles a ceftarolina (CPT) y ceftobiprole (BPR) en SAMR. Cualquier aislamiento con halos de $CPT \leq 23\text{mm}$ (o $CIM \geq 1\mu\text{g/ml}$) o de $BPR \leq 16\text{mm}$ (o $CIM \geq 4\mu\text{g/ml}$) deben confirmarse y de mantenerse los resultados remitir al LNR para su confirmación.

1. GLICOPEPTIDOS

En vista de las fallas de tratamiento documentadas por cepas que presentan CIMs de 2 y la falla del disco de VAN para detectarlas, CLSI eliminó el punto de corte de disco de las guías. Sin embargo se sugiere ensayar el disco de VAN en todos los aislamientos de *Staphylococcus* de infecciones severas (bacteriemia, endocarditis, infecciones del sistema nervioso central, neumonía, osteomielitis o mediastinitis) como screening de alto nivel de resistencia (VRSA).

La resistencia a glicopéptidos (VAN y TEI) en *Staphylococcus* spp. es sumamente inusual. Sólo se han descrito escasos aislamientos de *S. aureus* con resistencia neta a VAN y TEI y unos pocos aislamientos que presentan sensibilidad disminuida a estas drogas. Este último fenotipo es más frecuente en *Staphylococcus* coag. Neg. (especialmente *S. haemolyticus*).

Derivar al LNR:

***Staphylococcus aureus* con CIMs de VAN $\geq 4\mu\text{g/ml}$ o SCN con CIMs de VAN $\geq 16\mu\text{g/ml}$. Confirmar la identificación antes de derivar al LNR**

En caso de infecciones severas con aislamientos MetiR se debe realizar la CIM a VAN para guiar el tratamiento. De obtener un valor de $CIM=2\text{ ug/ml}$, se sugiere informar: "EL AISLAMIENTO PRESENTA SENSIBILIDAD A VANCOMICINA DE ACUERDO A LOS PUNTOS DE CORTE RECOMENDADOS POR EL CLSI, A PESAR DE ESTO LA SENSIBILIDAD ES "BORDERLINE" Y POR LO TANTO DEBERÁ MONITOREARSE ESTRECHAMENTE EL PROGRESO DEL TRATAMIENTO PORQUE SE HAN DOCUMENTADO FALLAS CON ESTE VALOR DE CIM".

PREDIFUSION: La predifusión con tabletas es un método útil para la detección de



resistencia a drogas con pobre difusión en el agar como VAN y daptomicina (DAP) en *Staphylococcus* spp o la resistencia a polipéptidos en bacilos gram negativos.

El protocolo de trabajo para la detección de VISA, GISA y heteroVISA por el método de predifusión con tabletas es el siguiente:

- 1) Colocar una tableta de VAN 30 µg y TEI de 30 µg sobre una placa de agar MH antes de ser inoculada.
- 2) Identificar la posición de cada tableta en la parte posterior de la placa, incubar 2 hs a 35°C y luego remover las tabletas golpeando la placa contra la mesada.
- 3) Mantener la placa a temperatura ambiente por 18-22 hs.
- 4) Inocular la placa con el aislamiento a ensayar con la densidad bacteriana habitual ajustada al patrón de 0,5 MF. Colocar el resto de las drogas a ensayar en posiciones distintas a las que se colocaron los discos de vancomicina y teicoplanina el día anterior. Incubar a 35° "overnight"
- 5) Medir las zonas de inhibición y comparar con los puntos de corte indicados por el fabricante

Puntos de corte:

Para HeteroVISA y HeteroGISA: VAN <20 mm ó TEI <20 mm

Para VISA y GISA: VAN <20 mm y TEI <20 mm

2. MACROLIDOS Y LINCOSAMINAS

Ubicar el disco de eritromicina a **15 a 26 mm** del de clindamicina (de borde a borde). Si se observa este achatamiento del halo de clindamicina en las proximidades del disco de ERY, se debe informar resistencia a esta droga a pesar que parezca sensible por el diámetro de la zona de inhibición (en WHONET ingresar el halo de CLI sin tener en cuenta el achatamiento).

⚠️ IMPORTANTE: En caso de obtener un antibiótico disociado con sensibilidad a clindamicina y resistencia eritromicina, completar el campo de **MLS** indicando en todos los casos si es positivo, "p" (achatamiento del halo de CLI en las cercanías de eritromicina) o negativo "n" si no se observa deformación del halo de CLI. En caso de sensibilidad o resistencia a ambas drogas no es necesario completar el campo de **MLS**.

3. CEFOXITINA

Ante la resistencia o sensibilidad a FOX, informar metilino resistente o metilino sensible respectivamente.

La metilino resistencia en *Staphylococcus* spp se determinará a través del ensayo del disco de cefoxitina únicamente excepto en *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* en los que deberíamos basarnos en el disco de oxacilina para informar metilino S o R. **En 2019 CLSI volvió a incluir el punto de corte de OXA para *S. epidermidis* pero en la Red seguiremos informando con el disco de cefoxitina.**



	Grupo <i>S. aureus</i> (incluye <i>S. lugdunensis</i>)		Otros <i>Staphylococcus spp.</i> (excepto <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. pseudintermedius</i> y <i>S. schleiferi</i>)		<i>S. epidermidis</i>		<i>S. pseudintermedius</i> y <i>S. schleiferi</i>	
	Disco (mm)	CIM ($\mu\text{g/ml}$)	Disco (mm)	CIM ($\mu\text{g/ml}$)	Disco (mm)	CIM ($\mu\text{g/ml}$)	Disco (mm)	CIM ($\mu\text{g/ml}$)
OXA	--	S \leq 2 R \geq 4	--	S \leq 0.25 R \geq 0.5	S \geq 18 R \leq 17	S \leq 0.25 R \geq 0.5	S \geq 18 R \leq 17	S \leq 0.25 R \geq 0.5
FOX	S \geq 22 R \leq 21	S \leq 4 R \geq 8	S \geq 25 R \leq 24	--	S \geq 25 R \leq 24	--	--	--

3.1. DISOCIACIONES OXA-FOX

En el caso de continuar con la evaluación de OXA (no obligatorio o en el caso de los automatizados) las disociaciones entre el resultado de FOX y OXA debe procederse según la especie:

- En grupo *S. aureus* informar directamente según el antibiótico que resultara más resistente.
- En *Staphylococcus coagulasa* negativa informar según el resultado de FOX (excepto *S. schleiferi* y *S. pseudintermedius*).

Recientemente se han producido dos situaciones que contribuyen a la disociación OXA-FOX:

- El cambio de punto de corte de CLSI 2016 para el *S. pseudintermedius* y en 2018 para *S. schleiferi*: se interpreta con puntos de corte propios sólo para OXA (disco y CIM), el uso de FOX para interpretar la meticilino resistencia puede conducir a errores muy mayores. Se encuentran principalmente disociaciones OXA R – FOX S (se debe informar metiR).
- La aparición del gen *mecC* en *S. aureus* como determinante de la meticilino resistencia no presenta un desafío de detección para la Red debido a que siempre se detecta con el disco de FOX. Si se presentaran disociaciones FOX R – OXA S se debe informar metiR.

Si bien las infecciones por *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* reportados en nuestra Red es muy baja y que aún no se ha detectado el gen *mecC* en aislamientos humanos de SAMR en Argentina debemos estar atentos ante la aparición de estas disociaciones y derivar al LNR los aislamientos que cumplan con los criterios de sospecha.

Por el momento no se va a volver a incorporar el disco de OXA al protocolo de trabajo, dado que no se cuenta con evidencia científica que demuestre que estas especies sean relevantes en cuanto a prevalencia en nuestro medio.



Derivar al LNR:

- Si utilizan el disco OXA o sistemas automatizados:
 - 1) *Staphylococcus* coagulasa +, **OXA R- FOX S**: completar la identificación y si resulta ***S. intermedius* o *S. pseudointermedius*** derivar al LNR para su estudio.
 - 2) ***S. aureus* FOX R – OXA S**: verificar que la lectura del disco de OXA se haya realizado a las 24hs con lectura de las colonias o pátinas internas. Si esto se confirma, derivar al LNR para su estudio.
- Si no prueben OXA deben estar atentos frente a ***Staphylococcus coagulasa positiva - manitol negativo - FOX S***, completar su tipificación y probar el disco de OXA. Si resulta *S. intermedius* o *S. pseudointermedius* - OXA R – FOX S, derivar al LNR para su estudio.

4. LINEZOLID

Aún es muy inusual la resistencia a linezolid en *Staphylococcus* spp. Todo aislamiento con halo ≤ 20 mm a esta droga se debe **derivar al LNR** para su confirmación y caracterización.

5. MENINGITIS

En caso de meningitis estafilocócicas por cepas meticilino sensibles realizar CIM a CTX o CRO.

6. ORINA

En caso de aislamientos de *S. aureus* de orina considerar la posibilidad de bacteriemia asociada y por lo tanto evaluar la sensibilidad a RIF y GEN. Si la cepa fuera meticilino resistente ensayar además VAN.

7. TIGECICLINA

Debido a la importancia de esta droga como opción de tratamiento para aislamientos de ETB productoras de carbapenemasas se recomienda reservar su informe sólo para aquellos casos clínicos en que se vaya a utilizar como tratamiento.

8. CEFTAROLINA y CEFTOBIPROLE

Ceftarolina (CPT) y ceftobiprole (BPR) son cefems de amplio espectro de uso parenteral. Se las considera cefalosporinas de quinta generación por su actividad bactericida contra MRSA debido a que conservan alta afinidad por la PBP2a que es la responsable de la resistencia de β -lactámicos en estos gérmenes. También son activas frente a *S. pneumoniae* con resistencia a pencilina, SCN-MR, *Haemophilus B-lasa* (+), *Moraxella B-lasa*(+), *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* y *E. cloacae*, aunque no posee actividad frente a ETB productoras de BLEE, AmpC o carbapenemasas.

CPT fue aprobada para su uso en infecciones de piel y ptes blandas complicadas y neumonía de la comunidad y BPR para neumonía adquirida en el hospital (no asociada a ventilador) y neumonía de la comunidad.

Los discos de BPR disponibles son los que poseen una carga 5ug según la



recomendación del EUCAST y son los que hasta el momento tienen punto de corte (Ver Tabla1. Puntos de corte no incluidos en CLSI)

9. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

Vitek:

- ✓ PROBAR TIGE, CPT y BPR

Phoenix:

- ✓ **PROBAR BPR.**
- ✓ **Chequear por disco los aislamientos Eri I.**
- ✓ **SCN chequear los resultados de Meticilino R en las siguientes situaciones:**

Especie	CIM OXA (µg/ml)	CIM FOX (µg/ml)
<i>S. epidermidis, hominis y haemolyticus</i>	≤0,25	≥8
	0,5	≤4
Resto de los SCN	≤0,25	≥8
	0,5-2	≤4

Los laboratorios que utilicen sistemas automatizados con paneles que contengan daptomicina deben incluir este dato en la base aunque no figure en el protocolo de trabajo.

Derivar al LNR:

***Staphylococcus aureus* y SCN no sensibles a Daptomicina.**

IV.b. *Enterococcus* spp.

Antibiograma de mínima (infección severa, una placa)

1. Ampicilina
2. Teicoplanina (1)
3. Vancomicina (1)
4. Gentamicina alta carga
5. Estreptomina alta carga

Antibiograma mínimo para infecciones urinarias no complicadas

1. Ampicilina
2. Teicoplanina (1)
3. Vancomicina (1)
4. Ciprofloxacina
5. Nitrofuranos



VRE

Antibióticos a agregar frente a enterococos resistentes a vancomicina (una placa)

1. Linezolid
2. Minociclina
3. Tigeciclina (3)
4. Daptomicina (solo por CIM para los que dispongan de automatizados o realicen método epsilométrico, NO esta validado el método de difusión)

Enterococcus spp en IU

EL ORDEN DE LAS DROGAS NO INDICA LA POSICIÓN EN QUE DEBERAN COLOCARSE EN LAS PLACAS.

Se elimina el disco de ampicilina/sulbactam como screening de presencia de β -lactamasa debido a la baja prevalencia de este mecanismo.

1. GLICOPEPTIDOS

La resistencia adquirida a los glicopéptidos (VAN y TEI) en *Enterococcus* spp. tiene graves consecuencias epidemiológicas debido al enorme potencial de diseminación de estos microorganismos y la ausencia de alternativas terapéuticas. Se debe estar muy atentos a la aparición de estas cepas y de ocurrir, alertar rápidamente al cuerpo médico para que se tomen las medidas necesarias para controlar su diseminación. Tener en cuenta que algunas cepas pueden presentar muy bajo nivel de resistencia a estas drogas e incluso mostrar fenotipo disociado (VAN R y TEI S). En las cepas sospechosas **(con halos intermedios o resistentes, según CLSI)** confirmar la sensibilidad a glicopéptidos por métodos cuantitativos.

Los aislamientos de enterococos móviles (*E. gallinarum*, *E. casseliflavus/ flavescens*) son resistentes naturales de bajo nivel a VAN y sensibles a TEI aunque muchas veces se vean como sensibles a VAN en el antibiograma. La identificación en estos casos es suficiente para informar la resistencia a esta última droga.

2. TIGECICLINA

Tigeciclina es una nueva gliciliciclina muy activa frente a cocos +. Se debe ensayar e informar en todos los aislamientos de *VRE*.

3. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

Confirmar las resistencias: linezolid y daptomicina.

Vitek:

- ✓ PROBAR TGC en *VRE*.

Phoenix:

- ✓ en *VRE*. *faecium* cambiar la tipificación a *E. faecalis* para ver la CIM de TGC y luego cargar este valor como E-test.

Los laboratorios que utilicen sistemas automatizados con paneles que contengan DAP deben incluir este dato en la base aunque no figure en el protocolo de trabajo.



Derivar al LNR:

E. faecalis y *E. faecium* no sensibles a **DAP**.

IV.c. *Streptococcus pneumoniae*

Antibiograma de mínima (una placa)

1. Oxacilina
2. Eritromicina (1)
3. Clindamicina (1)
4. Levofloxacina (2)
5. Trimetoprima/sufametoxazol

Antibiograma completo (dos placas)

1. Oxacilina
2. Eritromicina (1)
3. Clindamicina (1)
4. Levofloxacina (2)
5. Trimetoprima/sufametoxazol
6. Vancomicina (3)
7. Rifampicina
8. Tetraciclina
9. Ceftarolina

EL ORDEN DE LAS DROGAS NO INDICA LA POSICIÓN EN QUE DEBERAN COLOCARSE EN LAS PLACAS

En el caso de *S. pneumoniae* resistente a oxacilina realizar CIM a penicilina y cefotaxima o ceftriaxona (según corresponda).

Si se tratase de un neumococo resistente a cefalosporinas de tercera generación deberían ensayarse por discos Rifampicina y Vancomicina³

Los que realicen antibiograma por difusión ensayar CPT en la segunda placa del antibiograma completo (que contendrá VAN, RIF, TET y CPT) e interpretar según M100 del CLSI vigente. No se han comunicado hasta el momento cepas de *S. pneumoniae* no sensibles a CPT.

Derivar al LNR:

Cualquier aislamiento con halos ≤ 25 mm (o CIM $\geq 1\mu\text{g/ml}$) de ceftarolina debe ser remitido al LNR para su confirmación.

1. MACROLIDOS Y LINCOSAMINAS

Ubicar el disco de eritromicina a 12 mm del borde del de clindamicina (de borde a borde). Aclarar si hay un mecanismo de resistencia inducible (achatamiento de la zona de inhibición producida por el disco de clindamicina en las proximidades del disco de



ERY). Si se observa este achatamiento del halo de clindamicina se debe informar resistencia a esta droga a pesar que parezca sensible por el diámetro de la zona de inhibición. En caso de obtener un perfil de sensibilidad a clindamicina y resistencia eritromicina, completar el campo de MLS indicando en todos los casos si es positivo, "p" (achatamiento del halo de CLI en las cercanías de eritromicina) o negativo "n" si no se observa deformación del halo de CLI. De observarse fenotipo MLS_b inducible **derivar al LNR** para su confirmación.

2. LEVOFLOXACINA

La resistencia a quinolonas fluoradas en neumococo es sumamente inusual. Si se detectara un aislamiento resistente repetir la tipificación y la sensibilidad. De mantenerse los resultados **derivar al LNR** para su confirmación.

3. GLICOPEPTIDOS

Aún no se ha descrito resistencia a vancomicina en este microorganismo. Si se detectara un aislamiento resistente repetir la tipificación y la sensibilidad. En caso de confirmarse los resultados, **derivar al LNR** para su estudio.

4. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

Para los usuarios de sistemas automatizados no es necesario que prueben CPT por disco.

Phoenix

- ✓ probar disco de RIF
- ✓ si ERI I o R realizar el D-test (el panel no contiene test de inducción).

Vitek 2

Utilizando la tarjeta AST-ST03 no es necesario agregar discos ni hacer D-test (contiene test de inducción).

IV.d. Otros estreptococos (no neumococos)

Streptococcus del grupo viridans

Aislamientos de Hemocultivo y sitios estériles

Antibiograma de mínima para estreptococos del grupo viridans

- | | |
|----------------------------|---|
| 1. Penicilina (por CIM) | 2. Ceftriaxona (por CIM) |
| 3. Vancomicina (por disco) | 4. Penicilina (por Disco) ¹ OPTATIVO |

En infecciones severas por *Streptococcus* del grupo viridans se debe realizar la CIM a CTX/ceftriaxona independientemente de la sensibilidad observada por el método de difusión. En algunas situaciones clínicas se puede requerir realizar curva de muerte para evaluar la sinergia de los antibióticos β-lactámicos con aminoglucósidos especialmente cuando el germen es intermedio o resistente al antibiótico β-lactámico.

¹Utilizar los siguientes puntos de corte para penicilina (según Dr. Horacio Lopardo):
S ≥ 30mm; R ≤ 18mm. Tener en cuenta que en infecciones severas se debe confirmar el resultado por CIM.



***Streptococcus* β -hemolíticos**

Antibiograma de mínima para estreptococos β -hemolíticos

1. Penicilina
 2. Eritromicina
 3. Clindamicina
 4. Levofloxacin
-

EL ORDEN DE LAS DROGAS NO INDICA LA POSICIÓN EN QUE DEBERAN COLOCARSE EN LAS PLACAS

S. pyogenes de fauces, obligatorio, cortes de prevalencia en mayo y octubre. En este caso ensayar PEN, ERY y CLI por discos. Levofloxacin se evalúa sólo con fines epidemiológicos, en ningún caso se debe informar al médico. Ubicar el disco de eritromicina a 12 mm del borde del de clindamicina (de borde a borde). Aclarar si hay un mecanismo de resistencia inducible (achatación de la zona de inhibición producida por el disco de clindamicina en las proximidades del disco de ERY). Si se observa este achatación del halo de clindamicina se debe informar resistencia a esta droga a pesar que parezca sensible por el diámetro de la zona de inhibición (en WHONET ingresar el halo de CLI sin tener en cuenta el achatación).

Frente a cualquier aislamiento de estreptococos β -hemolíticos de otros tipos de muestras, diferente de fauces, es obligatorio ensayar PEN, ERY, CLI y LEV por discos durante todo el año.

En cepas de *Streptococcus agalactiae* provenientes de screening prenatal de pacientes embarazadas alérgicas a la penicilina o sus derivados se requiere evaluar la sensibilidad a eritromicina y clindamicina.

SISTEMAS AUTOMATIZADOS

- Vitek 2C vs *S.agalactiae*:
 - ✓ Con la tarjeta AST-ST03 no agregar discos y tienen test de inducción.
 - ✓ Con la tarjeta AST-P653 contiene test de inducción (solo para Staph) pero si cambiamos temporariamente la identificación a *Staphylococcus* podemos ver el resultado del test de inducción.
- Phoenix:
 - ✓ Si ERI=I o R realizar D-test.



V. *Haemophilus* spp

Antibiograma de mínima (dos placas)

- | | |
|------------------|--------------------------------|
| 1. Ampicilina | 5. Trimetoprima/sulfametoxazol |
| 2. Cloranfenicol | 6. Amoxicilina/clavulánico |
| 3. Azitromicina | 7. Ac. Nalidixico (1) |
| 4. Cefaclor | 8. Cefuroxima |

EL ORDEN DE LAS DROGAS NO INDICA LA POSICIÓN EN QUE DEBERAN COLOCARSE EN LAS PLACAS

En aislamientos resistentes a ampicilina, cefaclor o cefuroxima, evaluar la actividad de cefotaxima.

Se debe realizar antibiograma y CIM en medio HTM. En caso de no tener HTM realizar alguna prueba de β -lactamasas.

1. QUINOLONAS

No informar NAL pero si se observa resistencia a esta droga probar CIP e informar sensibilidad disminuida a CIP o resistente si el antibiograma así lo indica. La resistencia y la sensibilidad disminuida a QF en *Haemophilus* spp. es muy inusual. Si se detectara un aislamiento resistente o con sensibilidad disminuida a alguna de ellas, repetir la tipificación y la sensibilidad.

Derivar al LNR:

La resistencia a cefalosporinas de 3ra generación y azitromicina en *Haemophilus* spp. continúa siendo inusual. Si se detectara un aislamiento resistente a alguna de ellas, repetir la tipificación y la sensibilidad. En caso de confirmarse los resultados, enviarlo al LNR para su estudio y caracterización.

VI. *Neisseria meningitidis*

Solo realizar pruebas de sensibilidad para *N. meningitidis* si se cuenta con cabina de seguridad biológica.

Antibiograma (una placa)

1. Azitromicina
2. Rifampicina
3. Ácido Nalidíxico (1)

1. QUINOLONAS

No informar NAL pero si se observa resistencia a esta droga, **probar CIP e informar**



según el resultado del antibiograma. La resistencia a QF en meningococo es inusual. Si se detectara un aislamiento resistente o con sensibilidad disminuida a alguna de ellas, repetir la tipificación y la sensibilidad. En caso de confirmarse los resultados, **derivar al LNR** para su estudio y caracterización.

VII. Recomendaciones para los participantes de la red WHONET-ARGENTINA

*En 2020 se incorpora el campo Fecha de admisión. Este campo surge de la necesidad de caracterizar las infecciones en asociadas al hospital o adquiridas en la comunidad. En un futuro, el programa va a poder hacer este cálculo por lo cual se llenará automáticamente el campo infección intrahospitalaria (o similar), pero hasta que esto suceda se deben llenar los dos campos **"fecha de admisión"** e **"Infección intrahospitalaria"**. La fecha que se debe consignar es la fecha de internación del paciente en el hospital, ya sea en sala de guardia o en otra sala diferente a la que estaba cuando se tomó la muestra.

*Todos los laboratorios de la Red deben **chequear las bases WHONET mensuales** antes de enviarlas al LNR. Para eso deben abrir el archivo en el programa WHONET, ir a entrada de datos y clicar en la opción "Revisar base de datos". El programa les muestra en formato de listado todos los aislamientos del mes, allí deben revisar el llenado de todos los campos, que figuren todos los antimicrobianos y sobre todo algunos detalles críticos que enumeramos abajo.

*En aquellos laboratorios que utilizan sistemas automatizados, verificar antes de enviar las bases de datos que hayan pasado al archivo WHONET todos los campos de carga obligatoria. Los campos más críticos para el análisis de los datos en el LNR son: **Infección Intrahospitalaria, Servicio, Tipo de Servicio, Laboratorio (se llena automáticamente), Tipo de Muestra, Microorganismo**. Sin estos datos críticos las muestras que ustedes cargaron no van a entrar en el análisis de los datos del país por lo que es esfuerzo e información valiosa que se pierde.

*Los laboratorios que utilizan sistemas automatizados, deben controlar que los valores de CIM pasen con los signos $>$, $<$, \geq o \leq en el caso que corresponda. La falta de los mismos en algunos casos puede conducir a cambios en la interpretación.

*Es fundamental en el caso de los usuarios de sistema Vitek asegurarse de convertir los valores de CIM de TMS que arroja el sistema a valores que puedan ser analizados con los puntos de corte CLSI, de lo contrario suceden errores en la interpretación. Los valores que genera el sistema Vitek son la suma de las CIMs de trimetoprima y sulfametoxazol, mientras que en el WHONET debemos cargar el valor de la primera droga de la combinación. Por ejemplo el valor Vitek 20 corresponde a valores de CIM de 1/19 ug/ml y en la base WHONET debe figurar **1**. Las equivalencias para el resto de los valores son:

Valor de Vitek 40= CIM 2/38 = **2** en WHONET
Valor de Vitek 80= CIM 4/76 = **4** en WHONET
Valor de Vitek 160= CIM 8/152 = **8** en WHONET
Valor de Vitek 320= IM 16/304 = **16** en WHONET

*Se recomienda a los laboratorios que utilicen sistemas automatizados que ingresen los datos de **todas las drogas** que figuren en los paneles/ tarjetas aunque sean drogas que no figuran en el protocolo.



*Para 2020 el dato de la edad, sexo, **infección intrahospitalaria y fecha de admisión** van a ser componentes esenciales de los análisis nacionales y globales por lo que se deben extremar los esfuerzos para conseguir esa información.

*Es fundamental el llenado de los campos de **Resistencia enzimática y Mec R Carbapenemes** en **TODOS LOS BGNs CON SOSPECHA DE CARBAPENEMASA** (al menos algún carbapenem afectado o alarma de OXA-48like en Tribu Proteae según los algoritmos del LNR). **No se debe cargar el tipo de carbapenemasa en el campo "COMENTARIOS" debido a que el mismo no se analiza.**

*Control de calidad: La Organización Panamericana de la Salud solicita a todos los participantes de la red internacional de laboratorios colaboradores con dicho organismo, la realización de controles de calidad del antibiograma UNA VEZ CADA 15 DIAS, utilizando las 5 principales cepas de colección ATCC. Registrar los diámetros obtenidos e incorporarlos al sistema.

***Se recomienda a los participantes conservar todos los aislamientos enviados en las encuestas del Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología ya que pueden servir como controles de calidad de las distintas pruebas de sensibilidad o métodos moleculares.**

* Si no es posible identificar un microorganismo a nivel de especie indicar únicamente género. No realizar estimaciones por especie más frecuente. Ej.: ingresar *Enterococcus spp* en lugar de *E. faecalis*; *Enterobacter spp* en lugar de *Enterobacter cloacae*; etc.

* Evitar un muestreo sesgado de resistencia. No incorporar al sistema, resultados de determinaciones complementarias con antimicrobianos de mayor espectro, realizadas solamente sobre aislamientos provenientes de pacientes en los que se espera la aparición de multiresistencia.

*Si se prueba un mismo antimicrobiano por dos metodologías distintas y resultan en distintas interpretaciones se debe **dejar en la base solo el valor que se le va a informar al paciente**. Evitar el cargado de dos drogas por distinta metodología aunque den la misma interpretación, en algunos análisis a nivel del LNR puede conducir a sesgos. Siempre dejar en la base el resultado que se le informa al paciente.

*La edad del paciente es una información frecuentemente no disponible en el laboratorio, pero muchas veces se sabe a qué grupo etario corresponde. Cada institución podrá optar entre indicar exactamente la edad del paciente o utilizar el siguiente código:

Edad estimada	Cifra a incorporar en el programa
0 a 2 meses	1 mes
2 meses a 1 año	6 meses
1 a 5 años	3 años
5 a 18 años	10 años
18 a 60 años	40 años
más de 60 años	70 años

Se considera PEDIATRICO a todo paciente entre 1 mes y 18 años



* Se recomienda revisar las actualizaciones en las Reglas de Derivación. En este documento se alerta sobre los fenotipos inusuales de resistencia en los que se debe prestar especial atención antes de informar y que deben ser enviados al LNR para su confirmación. En el caso que dichos fenotipos se vuelvan frecuentes en una institución, el LNR notificará al laboratorio el cese de la derivación, pero hasta esa instancia les recordamos que **los laboratorios de la Red tienen el compromiso de enviar los fenotipos inusuales que figuran en ese documento.**

*Enviar los datos al finalizar cada mes

VIII. Control de Calidad

Una de las características más destacadas de este proyecto es el importante esfuerzo en mejorar la calidad de todo el trabajo del laboratorio de bacteriología.

Cepa

Factores que evalúa: interpretación

P. aeruginosa **ATCC 27853**

- Calidad de los discos de antimicrobianos
- Concentración de cationes (Ca^{++} y Mg^{++}) del MH: halos por debajo del rango establecido para los aminoglucósidos cuando la concentración de cationes es excesiva o halos por encima del rango cuando la concentración de los mismos es baja.
- Concentración de Zn^{++} del MH: aumento de halos de inhibición frente a carbapenemes cuando hay déficit en la concentración de Zn^{++} y disminución de los halos cuando hay un exceso de este catión.
- pH: disminución de los halos para aminoglucósidos cuando el pH del medio disminuye. Aumento de los halos cuando el pH es superior a 7,4.
- Cepa ideal para el control de la carga de los discos de carbapenemes

E. coli **ATCC 25922**

- Calidad de los discos de antimicrobianos
- Concentración de cationes (Ca^{++} y Mg^{++}) del MH: halos por debajo del rango establecido para aminoglucósidos y tetraciclinas cuando aumenta la concentración de cationes (*P. aeruginosa* ATCC27853 es la ideal para esto pero se puede observar también con *E. coli* ATCC25922).
- pH: Aumento de las zonas de inhibición para tetraciclina y el efecto opuesto para los aminoglucósidos cuando el pH del MH disminuye. Todo lo contrario cuando el pH del MH aumenta. (*P. aeruginosa* ATCC27853 es la ideal para esto pero se puede observar también con *E. coli* ATCC 25922)



E. coli
ATCC 35218

- Carga de inhibidores de β -lactamasas en los discos combinados con antibióticos β -lactámicos. Probar sólo frente a las siguientes combinaciones: ampicilina/sulbactam, amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam. Discos con baja carga o degradados determinarán pequeñas zonas de inhibición frente a esta cepa.

K. pneumoniae
ATCC 700603

-Cepa productora de β -lactamasa de espectro extendido (SHV-18). Control positivo para el control de discos de cefotaxima/clavulánico (30/10 μ g) y ceftazidima/clavulánico (30/10 μ g)
-Cepa indicada para controlar discos y tiras de gradiente de ceftazidima/ avibactam (carga del disco recomendada 10/4 μ g, según EUCAST) y ceftolozano/ tazobactam.

S. aureus
ATCC 25923

- Calidad de los discos de antimicrobianos
- pH: disminución de las zonas de inhibición para macrólidos cuando el pH del MH disminuye. Todo lo contrario cuando el pH del MH aumenta (si bien no es la cepa ideal, se pueden observar efectos similares a *E. coli* ATCC 25922 para los aminoglucósidos y tetraciclinas cuando varía el pH del MH).

E. faecalis
ATCC 29212

- Concentración de timina/timidina: Este compuesto interfiere con la actividad de trimetoprima y de sulfametoxazol. Timina/timidina en exceso en el MH determina diámetros de inhibición <20 mm frente a esta cepa.
- Control de calidad de la carga de los discos de gentamicina de 120 μ g y estreptomicina 300 μ g.

1. Controles de Calidad Externo

Cada institución participante deberá responder todas las encuestas del Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología, coordinado por el INEI y el Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Buenos Aires.



Cepa	Factores que evalúa: interpretación
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	<ul style="list-style-type: none"> - Cepa resistente a vancomicina por gen van B y a altos niveles de aminoglucósidos). - Control positivo para la detección de la resistencia de alto nivel a aminoglucósidos.
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	<ul style="list-style-type: none"> - Cepa meticilino-resistente, con CIM de oxacilina: 8 µg/ml). - Control de calidad del disco de cefoxitina para la detección de meticilino resistencia. Debe presentar un diámetro de inhibición ≤ 21mm
<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	<ul style="list-style-type: none"> - Cepa resistente a ampicilina no productora de β-lactamasas. - Control de calidad de la prueba de difusión para <i>Haemophilus</i> utilizando HTM (utilizada para todas las drogas excepto algunas cefalosporinas).
<i>H. influenzae</i> ATCC 49766	<ul style="list-style-type: none"> - Cepa indicada para control de calidad de los discos de cefalosporinas no evaluadas con <i>H. influenzae</i> ATCC 49247
<i>H. influenzae</i> ATCC 10211	<ul style="list-style-type: none"> - Cepa nutricionalmente exigente, indicada para el control de calidad del medio de cultivo HTM.
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<ul style="list-style-type: none"> - Cepa con sensibilidad intermedia a penicilina indicada para control de calidad de la prueba de sensibilidad.
Cepa 1, Enc 30 PCCN <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Calidad de la prueba de sensibilidad de discos de EDTA/SMA. Puede dar "huevos" más grandes con MEROPENEM que con IMIPENEM. Ensayar una vez al mes
Cepa 1, Enc 52 PCCN. <i>E. coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Cepa productora de MBL VIM-1, indicada para evaluar la concentración de Zn⁺⁺ del MH. Si el medio tiene concentración de Zn⁺⁺ bajas no permitirán la detección de la MBL y se observarán halos mayores de carbapenemes y/o ausencia de "huevo" con los discos de EDTA/SMA. Se debería evaluar cuando hay cambio de lote o de marca de agar MH.



2. Control de Calidad Interno

A través del Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología se envían periódicamente cepas de referencia para realizar el control de calidad de las pruebas de sensibilidad. Las mismas deben ser conservadas para su utilización. Así mismo se recomienda conservar todos los aislamientos enviados como cepas incógnitas ya que pueden servir como controles de calidad de las distintas pruebas de sensibilidad o métodos moleculares.

OTROS CONTROLES DE CALIDAD INTERNO

Las cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, deberán testearse UNA VEZ CADA QUINCE DIAS para el control general de procedimientos. El resto de las cepas deberán incluirse cuando se estudian los microorganismos correspondientes.

3. Esquema (de mínima) sugerido para el control de discos

Drogas del protocolo					
	ECO 25922	SAU 25923	PAE 27853	ECO 35218	EFA 29212
Amicacina			X		
Amoxicilina/ac. Clavulánico	X			X	
Ampicilina	X				
Ampicilina/sulbactam	X			X	
Azitromicina		X			
Aztreonam			X		
Cefaclor	X				
Cefalotina	X				
Cefazolina	X				
Cefepima		X			
Cefotaxima	X				
Ceftarolina		X			
Ceftazidima	X				
Cefoxitina¹	X	X			
Cefpodoxima	X				
Cefuroxima	X				
Ciprofloxacina			X		
Clindamicina		X			
Cloranfenicol	X				
Eritromicina		X			
Ertapenem	X				
Estreptomina 300 µg					X
Fosfomicina 50 ug	X (20-				



	40mm)				
Fosfomicina 200ug	X				
Gentamicina			X		
Gentamicina 120 µg					X
Imipenem			X		
Levofloxacin			X		
Linezolid		X			
Meropenem			X		
Minociclina	X				
Nitrofurantoina	X				
Oxacilina		X			
Penicilina		X			
Piperacilina/tazobactama		X		X	
Rifampicina 5ug*		X			
Tetraciclina	X				
Tigeciclina	X	X	X		
Trimetoprima/sulfametoxazol		X			X
Vancomicina		X			
Total de discos	18 drogas	14 drogas	8 drogas	3 drogas	3drogas

¹Ensayar frente a SAU ATCC 43300. Debe presentar un diámetro de inhibición ≤ 21mm

* Para controlar los discos de Rifampicina de 30ug sólo se dispone de rangos de las Normas Francesas: *S.aureus* ATCC 25923: 34-39 mm.

	ECO 25922	SAU 29213	KPN 700603
Cefotaxima/ac. Clavulánico	X		X
Ceftazidima/ac. Clavulánico	X		X
Ceftazidima/ avibactam (10/4ug)*			X (18-24)*
Ceftolozano/ tazobactam (30/10ug)			X
Ceftobiprole (5ug)*	X (25-31)*	X (22-28)*	

*según EUCAST

4. Sistemas automatizados

Para sistemas automatizados se recomienda que la frecuencia del control de calidad sea cada vez que se cambia de lote de tarjetas/ paneles y aunque sean del mismo lote, cada vez que se recibe un nuevo envío de tarjetas/ paneles al laboratorio. Se deben usar para el control las cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. La interpretación de los resultados se debe realizar con los rangos que se encuentran en la Tabla 5A del documento M100 vigente.

5. Control de calidad de las placas de agar Mueller Hinton



El control de calidad del agar Mueller Hinton se debe realizar para cada lote de medio preparado aunque provenga del mismo frasco de medio o para cada lote de placas adquiridas comercialmente (independientemente que se cuente con el certificado de calidad del proveedor). Los parámetros mínimos a controlar son:

- 1) pH
- 2) Contenido de Ca^{++} y Mg^{++}
- 3) Contenido de Zn^{++}
- 4) Contenido de Timina/timidina
- 5) Profundidad del agar

1) El pH del Mueller Hinton debe estar entre **7,2 y 7,4** por lo tanto el control del pH del medio debe realizarse con pHmetro de sensibilidad de $\pm 0,01$ unidades de pH. Se debe proceder según recomendaciones del documento M02 vigente del CLSI:

4.1.2. pH

El pH para cada lote debe ser controlado cuando se prepara el medio. La metodología empleada dependerá del equipamiento con que cuente cada laboratorio. El agar debe tener un pH 7,2 - 7,4 a temperatura ambiente y debe determinarse después de su solidificación. Si el pH es demasiado bajo, ciertas drogas (ej. aminoglucósidos, quinolonas y macrólidos) parecerán menos activas; mientras otras (ej. tetraciclinas) parecerán tener mayor actividad. Si el pH es demasiado alto se podrían esperar los efectos opuestos.

El pH se puede determinar de las siguientes maneras:

- 1 - Macerar la cantidad de agar necesaria para sumergir el bulbo del electrodo del pHmetro.
- 2 - Dejar solidificar la cantidad necesaria de agar alrededor del bulbo del electrodo del pHmetro de modo que quede cubierto.
- 3 - Mediante la utilización de un pHmetro con electrodo de superficie correctamente calibrado.

Las tiras de pH tienen una sensibilidad máxima de $\pm 0,2$ unidades por lo que no son adecuadas para el control de calidad de este parámetro.

2) El contenido de cationes Ca^{++} y Mg^{++} afecta el resultado de las pruebas de sensibilidad para algunas drogas como aminoglucósidos, tetraciclinas, etc. El contenido de cationes del agar MH se puede determinar prácticamente a través del ensayo de *P. aeruginosa* ATCC 27853 frente a los discos de aminoglucósidos, especialmente gentamicina. Los halos de inhibición obtenidos deberían encontrarse dentro de los recomendados en la Tabla 4A del documento M100 vigente del CLSI (Límites aceptados para el control de calidad de la prueba de difusión).

3) El contenido de Zn^{++} del agar MH afecta el resultado de las pruebas de sensibilidad de los carbapenemes. La forma práctica de evaluar el contenido de este catión es a través de la *P. aeruginosa* ATCC 27853 frente a imipenem. Los halos de inhibición obtenidos deberían encontrarse dentro de los recomendados en la Tabla 4A del documento M100 vigente (Límites aceptados para el control de calidad de la prueba de difusión).

El defecto de Zn^{++} , por otra parte, afecta la detección de metalcarbapenemasas, obteniéndose halos más grandes a los carbapenemes y dificultando la interpretación de la sinergia entre estos antimicrobianos y el EDTA debe controlarse con la cepa 1, Enc 52 PCCN. *E. coli* VIM-1.

4) El contenido de timina/timidina del agar MH afecta el resultado de las pruebas de sensibilidad para trimetoprima y las sulfonamidas o la combinación de ambas drogas (trimetoprima-sulfametoxazol). El CLSI



recomienda evaluar el contenido de estos compuestos de la siguiente manera:

4.1.4. Efecto de la Timina o Timidina

Los medios que contienen excesiva cantidad de timina o timidina pueden revertir los efectos inhibitorios de las sulfonamidas y trimetoprima, produciendo así zonas más pequeñas, menos nítidas o sin halo que pueden dar como resultado un informe de falsa resistencia.

*Se debe utilizar un agar Mueller Hinton que contenga la menor cantidad de timidina posible. Dado que pueden presentarse problemas en las pruebas de control de calidad con sulfonamidas y trimetoprima, se hace necesario controlar el agar Mueller Hinton. Para evaluar cada lote de Mueller Hinton en su contenido de Timidina se debe utilizar una cepa control (*Enterococcus faecalis* ATCC® 29212 o ATCC® 33186) que se prueba frente a discos de trimetoprima / sulfametoxazol.*

Un medio adecuado mostrará un halo de inhibición claro y definido de 20 mm o más. En Los medios con alto contenido de timidina se observarán zonas de inhibición con colonias dentro del halo, menores de 20 mm o sin zona de zona de inhibición.

5) Según el documento M2 vigente del CLSI para la realización de las pruebas de sensibilidad por el método de difusión, la profundidad de las placas de agar MH debe ser de aproximadamente 4 mm. Ante la falta de parámetros establecidos para la variabilidad aceptable de la profundidad de la placa de agar MH para las pruebas de sensibilidad por difusión, tomaremos como norma arbitraria dentro de la Red WHONET-Argentina, una variación permitida de $\pm 0,5$ mm. Por lo tanto las placas serán aceptables si tienen una profundidad entre 3,5 y 4,5 mm.

Debido a que cada nuevo lote preparado o adquirido de placas de agar MH debe ser controlado en su contenido de Ca^{++} , Mg^{++} , Zn^{++} , pH, timina/timidina y espesor del agar independientemente de los resultados de la prueba de QC interno quincenal (o semanal), se recomienda proceder de la siguiente manera práctica:

Placas preparadas comercialmente: tomar una placa de cada lote recibido del fabricante y evaluar que la profundidad del agar se encuentre entre 3,5 y 4,5 mm (mediante calibre, palillo, etc). En la misma u otra placa (dependiendo del estado posterior a la evaluación de la profundidad), hisopar media placa con *P. aeruginosa* ATCC 27853 (PAE) y colocar un disco de gentamicina y otro de imipenem. En la otra mitad de la placa hisopar *E. faecalis* ATCC 29212 (EFA) y ensayar el disco de trimetoprima/sulfametoxazol. Interpretar los resultados con la tabla 4A del documento M100 vigente del CLSI para el control de calidad de las pruebas de sensibilidad por difusión (rangos aceptables GEN vs PAE: 17-23mm; IMI vs PAE: 20-28 mm y SXT vs EFA: >20mm). Si los halos obtenidos se encuentran dentro de estos rangos, se podría asumir que el medio tiene el contenido adecuado de estos componentes y el pH es aceptable.

Placas preparadas en el laboratorio a partir de medio en polvo: Se debe proceder de la misma manera que para las placas preparadas comercialmente evaluando una placa de cada lote de agar MH preparado. Se entiende por lote de agar preparado a cada pesada de medio MH disuelta en H_2O destilada y posteriormente esterilizada.

ANEXOS

Tabla 1. Puntos de corte no incluidos en el CLSI

Antibiótico	Carga	Sensible	Intermedi o	ATU ⁸	Resistente
Fosfomicina I.V / glucosa-6-P ²	50 µg/50µg	≥ 15	13-14		≤12
Fosfomicina I.V / glucosa-6-P ²	200 µg/50µg	≥ 17	16-14		≤15
Ac. Fusídico ³	10 µg	≥ 22			<22
Tigeciclina ⁴	15 µg	≥ 21	CIM		≤ 16
Tigeciclina ⁵	15 µg	≥ 19			
Mupirocina	200 µg	> 06			No halo
Mupirocina	CIM				≥ 512 µg/ml
Ceftobiprole⁷	5ug	≥ 17		16-17	≤16
Rifampicina ⁶	30µg	≥19mm			<14mm
Cefalexina⁷	30ug	≥ 14			≤13

² Según Pasteran y cols. JIDC, 2012

³ Punto de corte según EUCAST 2010 (Table v. 1.1 2010-04-27)

⁴ Puntos de corte para ETB y *Acinetobacter* spp. provistos por el LNR (*Pasteran y cols. J Infect Dev Ctries 2012; 6(5):452-456.*): Estudios de farmacocinética y farmacodinamia permiten afirmar que el punto de corte propuesto por el EUCAST para el método de CIM (S ≤1.0 µg/ml; R ≥4.0 µg/ml) se ajustaría más apropiadamente a los parámetros PK/PD (pico sérico 0,75 µg/ml para una dosificación de 50mg vía EV cada 12 hs). En estudios realizados en el LNR en cepas de ETB se pudo observar que ninguno de los puntos de corte de discos disponibles (EUCAST o FDA) logró correlacionarse inequívocamente con estos valores apropiados de CIM (S ≤1.0 µg/ml; R ≥4.0 µg/ml). En función de lo anterior, para el método de CIM, proponemos utilizar los nuevos puntos de corte del EUCAST (S≤ 1.0 µg/ml; R≥ 4.0 µg/ml). Y para aquellos laboratorios que utilicen el método de difusión, basados en un principio precautorio, recomendamos para las cepas que se traten con tigeciclina, y hasta nueva actualización, considerar S todas las cepas con halos ≥ 21mm. En cepas con halos ≥21mm podrá asegurarse CIMes ≤ 1.0 ug/ ml (SENSIBLE). **Todas aquellas cepas que se traten con tigeciclina y tengan halos entre 17 y 20 mm, deberán ser confirmadas por CIM.** Aquellos laboratorios que dispongan de E-test, podrán usar esta herramienta para confirmación. Pero deberán tener presente que también este método tiene asociada una tendencia a dar valores de CIM 1 o 2 diluciones por encima de la CIM determinada por dilución en caldo.

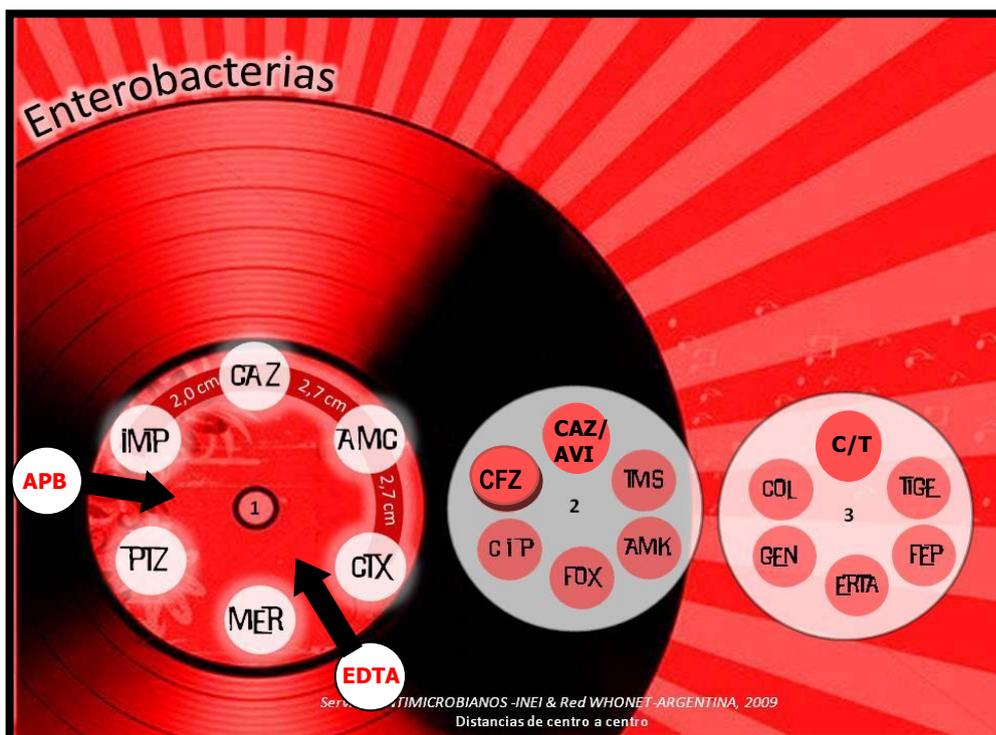
⁵Punto de corte válido para *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp. sugerido por FDA.

⁶Punto de corte según normas de la Sociedad Francesa de Microbiología válido para *Acinetobacter* spp., *S. maltophilia* y *P. aeruginosa*.

⁷ Punto de corte según EUCAST

⁸ATU (por sus siglas en inglés de Area of Technical Uncertainty= área de incertidumbre técnica): nuevo concepto definido en 2019 por EUCAST. ATU es un alerta para el laboratorio sobre los resultados del antibiograma (CIM o discos) que indica que el resultado de la prueba de sensibilidad está en un área donde hay dificultades en la interpretación. Ver http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Area_of_Technical_Uncertainty_-_guidance_2019-1.pdf

Figura 1: Esquema de colocación de los discos para ETB



Aquellos laboratorios que realicen el esquema de máxima, con los discos de EDTA y APB en el antibiograma inicial, ubicar: EDTA a 2 cm entre los discos de CTX y MER, mientras que el de APB a 2 cm de IMP hacia el centro o periferia de la placa tratando de no interferir la sinergia IMP-CAZ.

Figura 2: Flujograma para la detección e informe de BLEE en ETB por el método de difusión por discos

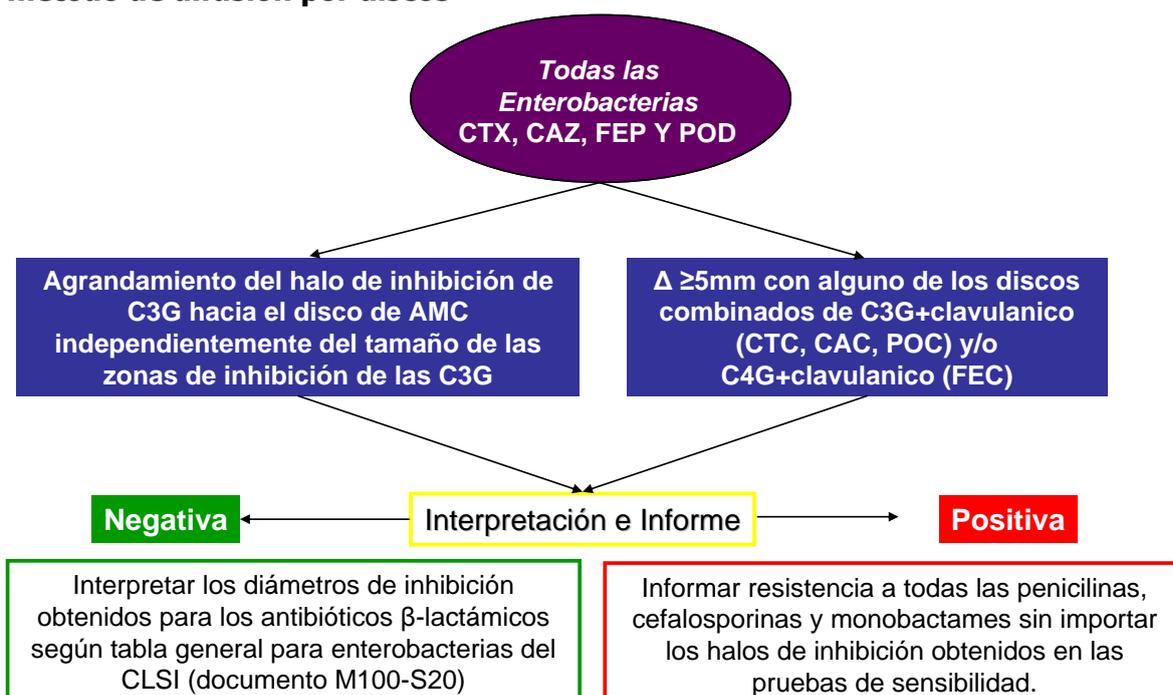


Figura 3. Detección de carbapenemasas en Enterobacterales.



Figura 4. Confirmación fenotípica de carbapenemasas en Enterobacterales (CPEs)

Detección de CPEs

	KPC SME/IMI	MBL	NDM PROTEAE	OXA 48	OXA 163	NON-CPE	
						CTXM +porinas	AmpC +porinas
COLOR BCT, CNPd, BCDisk, Rapidec	++	++	++/-	++/-	--	--	--
THT	++	++	++ <small>Proteus spp: CLDE, Levine, etc</small>	++	++	--/+	--/+ <small>Falsos positivos en Kpn, Ent., Sma > Eco</small>
mCIM (eCIM)	++ (-)	++ (+)	+/- (+)	++/I (-)	--	--/+	--/+
DCM & inhibidores	BOR	EDTA	EDTA ó DIP	sin inhib. TEMO: R	sin inhib. TEMO: R, L, S	TAZ	CLOX
CPO BD detect	A	B	D	P	N/P	N/P	
K-SeT (quintuple)	KPC	NDM, VIM, IMP		OXA 48+	OXA 163+		

Si negativo derivar al LNR (PCR) Exceso de inoculo: doble banda OXA48 y OXA-163+

REF. ++: >90% de casos positivos +/-: 80-90% de casos positivos +/-: 50-60% de casos positivos
 --: >95% de casos negativos --/+: 85-95% de casos negativos
 I: indeterminado (confirmar mediante otro método)

Figura 5. Esquema de colocación de los discos para *P. aeruginosa*

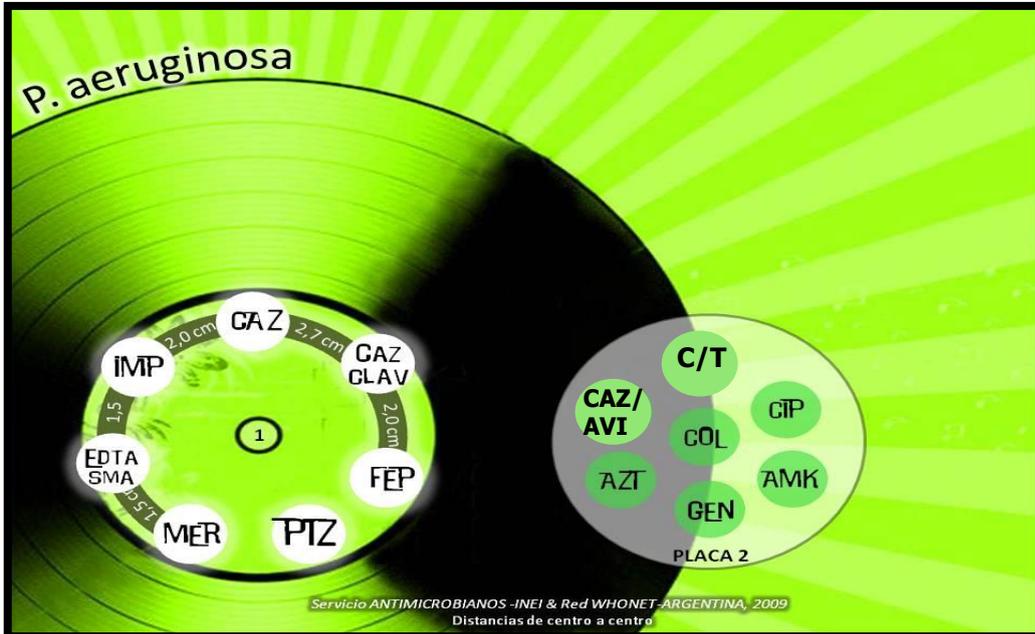


Figura 6. Esquema de colocación de los discos para *Acinetobacter spp*

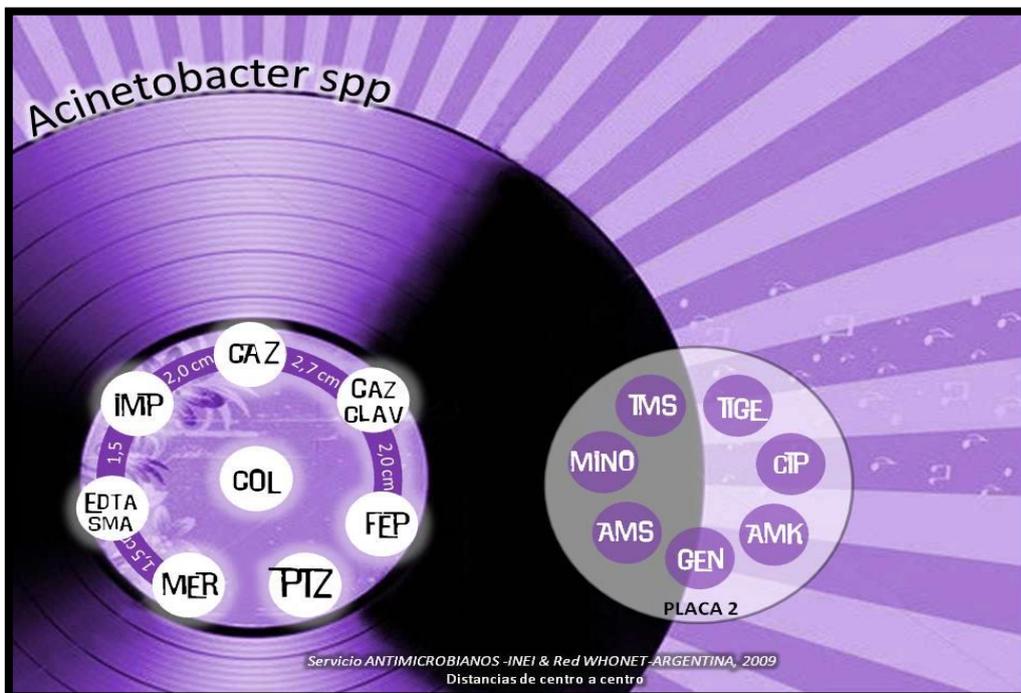


Figura 7. Detección de carbapenemasas en *Pseudomonas*

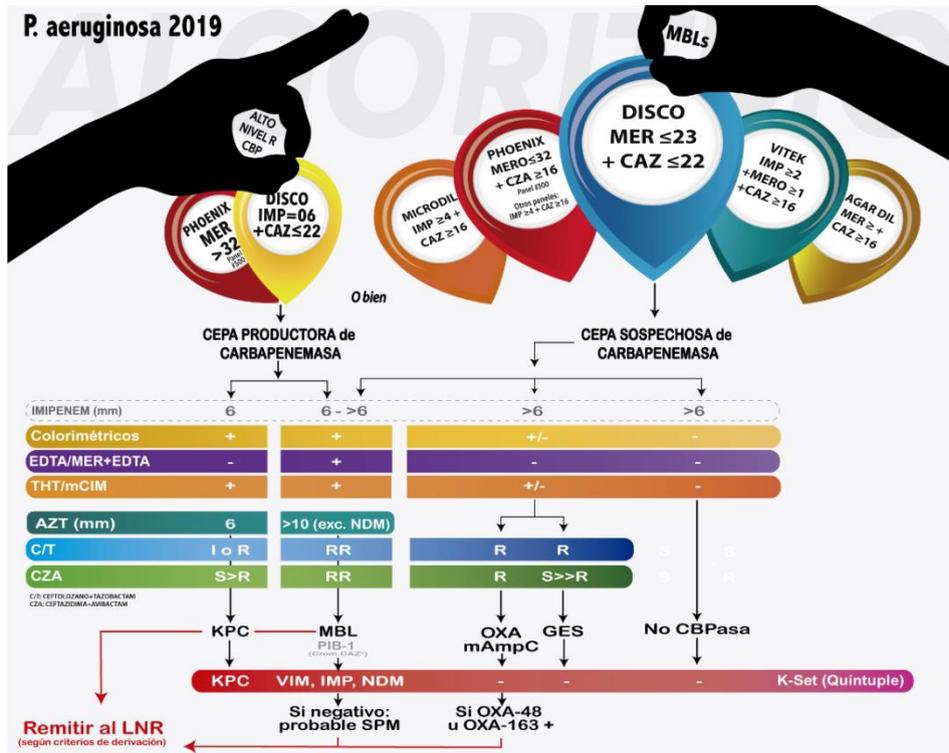


Figura 8. Detección de carbapenemasas en *Acinetobacter* spp.

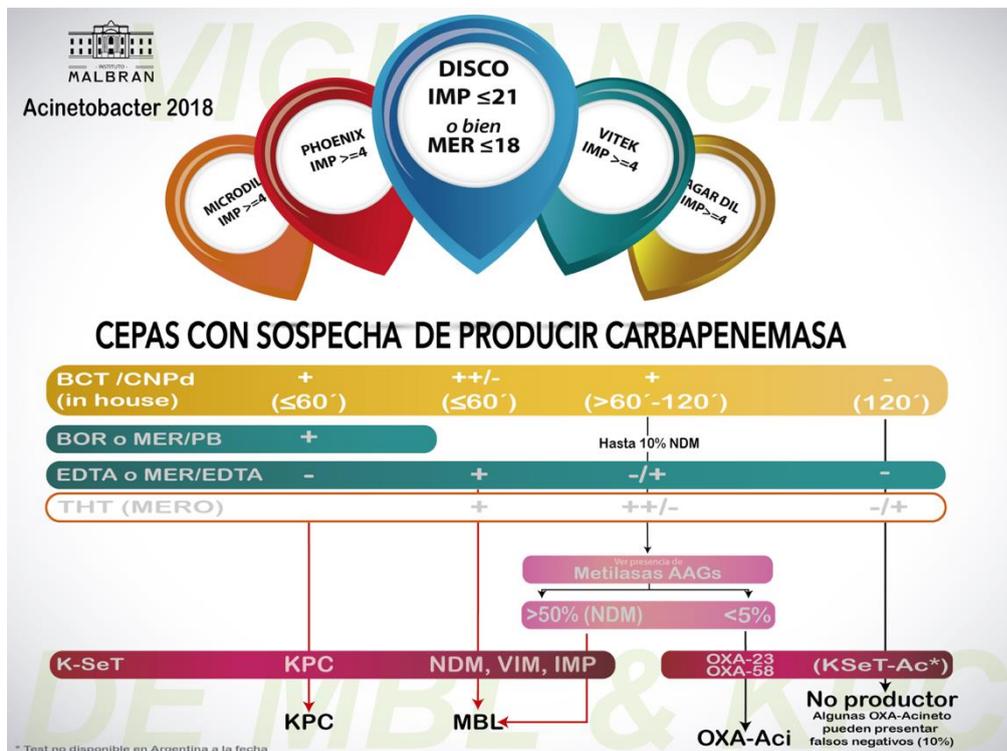


Figura 9. Puntos de corte 2017 para ETB para la interpretación del DCMBrit

PUNTOS DE CORTE REVISADOS PARA ENTEROBACTERIAS

Año 2017



Mecanismo	Especie	PB	CLOX	EDTA	TAZ
Clase A (KPC, etc)	Tribu Proteeae S. marcescens Kluyvera spp.	>=4			
	OTRAS	>=4	<=5		
Clase B (NDM, IMP, VIM, etc)	Citrobacter spp, E. coli Enterobacter spp S. marcescens	<=3		>=5	<=4
	OTRAS	<=3		>=8	<=4
Clase D (OXA)	Citrobacter spp, E. coli Enterobacter spp S. marcescens	<=3		<=4	<=4
	OTRAS	<=3		<=7	<=4

Figura 10. Detección de carbapenemasas en Enterobacteriales. Panel CPO Phoenix

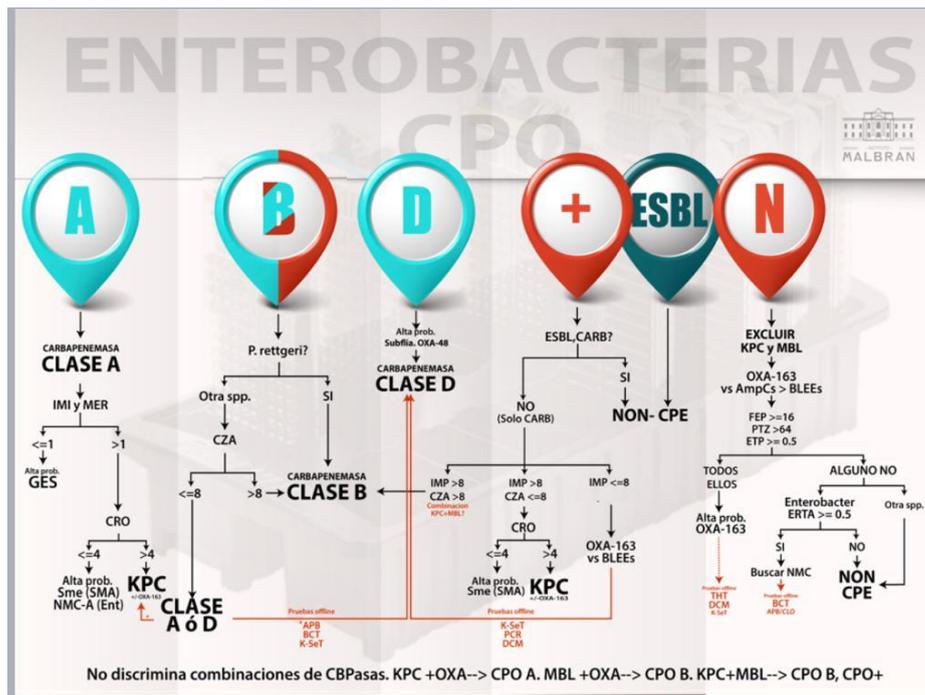


Figura 11. Detección de carbapenemasas en *Pseudomonas* spp. Panel CPO Phoenix

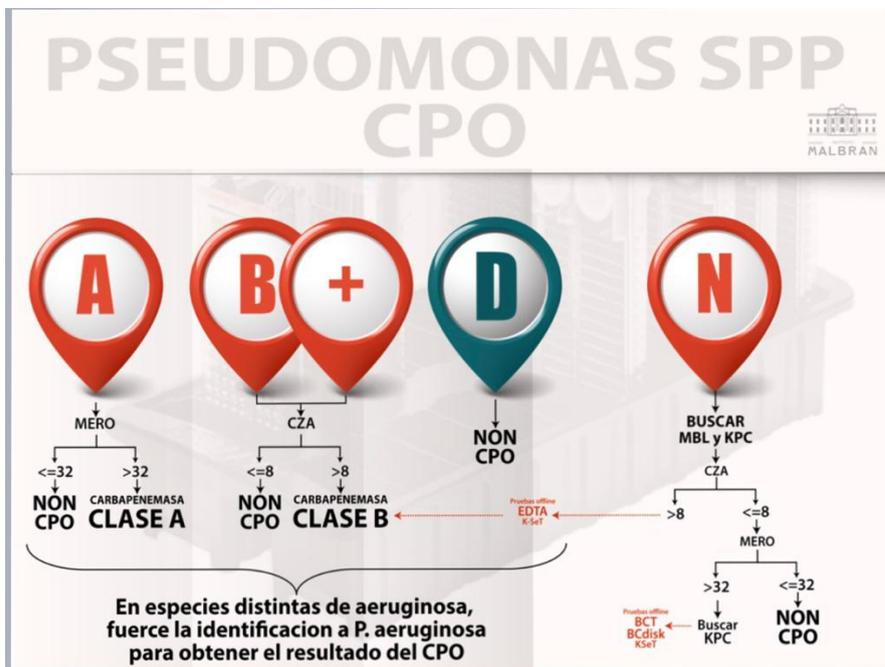
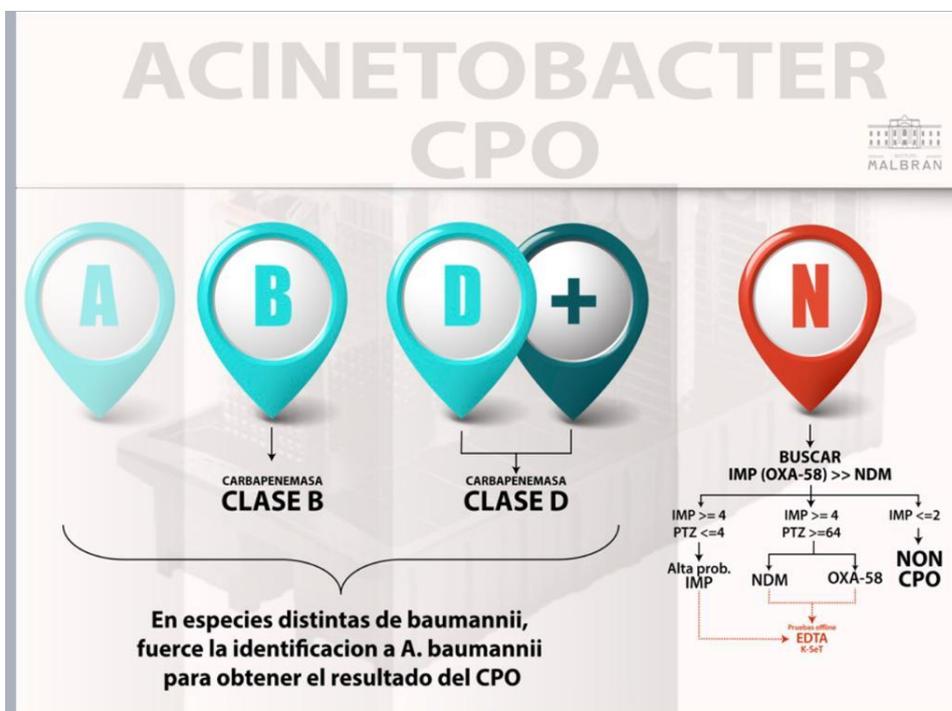


Figura 12. Detección de carbapenemasas en *Acinetobacter* spp. Panel CPO Phoenix





RED de VIGILANCIA de la RESISTENCIA a los ANTIMICROBIANOS WHONET-ARGENTINA

Institución Coordinadora: Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS, Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires, Argentina.

Grupo Responsable LNR Antimicrobianos: Alejandra Corso, Celeste Lucero, Fernando Pasterán, Ezequiel Tuduri, Alejandra Menocal, Juan Manuel de Mendieta.

INSTITUCIÓN	PROFESIONAL RESPONSABLE
BUENOS AIRES	
HOSPITAL MUNICIPAL DR. FEDERICO ABETE	Johanna Perez, Antonia Lovigne
HIGA "DR JOSE PENNA"	Maria Luz Benvenuti, Mabel Silvia Rizzo
HIGA "DR. A. PIÑEYRO" – JUNIN	Mónica Machain, Jorgelina Suarez
HIGA PTE PERON	Maria Adelaida Rossetti
HIGA VICENTE LOPEZ Y PLANES	Hebe Gullo, Maria Susana Commisso
HOSPITAL ANTONIO CETRANGOLO	Ana Sangoy, Andrea Appendino
HOSPITAL DE NIÑOS S M LUDOVICA. LA PLATA	Cecilia Vescina, Marisa Bettiol
HOSPITAL DR. CARLOS BOCALANDRO	Nory Cerda, Carolina Vaccino
HOSPITAL EVITA DE LANUS	Ana Togneri, Laura Podesta
HOSPITAL I.E.A. Y C. SAN JUAN DE DIOS	Andrea Silvia Pacha, Ricardo Cabrera
HOSPITAL INTERZONAL DE AGUDOS EVA PERÓN	Marisa Nancy Almuzara, Alicia Tuduri
HOSPITAL MUNICIPAL "DR. P. T. ORELLANA"	Maria Cecilia Barracchia, Maria Josefina Guisande
HOSPITAL MUNICIPAL DE AGUDOS DR. LEONIDAS LUCERO	Dina Pedersen, Pilar Carral
HOSPITAL MUNICIPAL RAMÓN SANTAMARINA	Mónica Sparo, Sabina Lissarrague
HOSPITAL NACIONAL PROF.DR. ALEJANDRO POSADAS	Adriana Di Bella, Adriana Fernandez Laussi
HOSPITAL ZONAL ESP. MATERNO INFANTIL "ARGENTINA DIEGO"	Stella Maris Altamiranda
HOSPITAL UNIVERSITARIO AUSTRAL	Vilches Viviana , Ivana Martinelli
HOSPITAL ZONAL GRAL DE AGUDOS VIRGEN DEL CARMEN	Adriana Myrian Melo, Ana Silvera
CABA	
HOSPITAL DE INFECCIOSAS FRANCISCO JAVIER MUÑIZ	Miriam Mortarini, Raquel Rollet
HOSPITAL DE NIÑOS DR. RICARDO GUTIÉRREZ	Estefanía Biondi, Miryam Vazquez
HOSPITAL DONACION F. SANTOJANNI	Claudia Maria Alfonso, Cecilia Ormazabal
HOSPITAL GRAL. DE AGUDOS P. PIÑERO	Flavia Amalfa, Juan Stupka
HOSPITAL JUAN A. FERNANDEZ	Laura Errecalde, Liliana Guelfand



HOSPITAL PEDRO DE ELIZALDE	Rosana Pereda, Marilina Ines Kuzawka
HOSPITAL UNIVERSITARIO FUNDACIÓN FAVALORO	Patricia Andres, Analía Fernández
FLENI	Fabiana Genero, Julio Pace
HOSPITAL DE PEDIATRIA S.A.M.I.C. PROF.DR. JUAN GARRAHAN	Vanesa Reijtmán, Adelaida Isasmendi
HOSPITAL GRAL. DE AGUDOS DR.COSME ARGERICH	Nora Alejandra Gomez
CEMIC	Federico Nicola, Jorgelina Smayevsky
CATAMARCA	
HOSPITAL INTERZONAL DE NIÑOS "EVA PERÓN "	Patricia Valdez
HOSPITAL INTERZONAL SAN JUAN BAUTISTA	Viviana Del Valle David, Maria Alejandra Rodriguez
CHACO	
HOSPITAL "DR JULIO PERRANDO"	Isabel Ana Marques, Mariana Carol Rey
HOSPITAL "4 DE JUNIO" DR. RAMON CARRILLO	Norma Esther Cech, Claudia Fontan
HOSPITAL PEDIATRICO AVELINO L CASTELAN	Zaloff Dakoff Ana Maria, García Saito
CHUBUT	
HOSPITAL REGIONAL DR. SANGUINETTTI-COMODORO RIVADAVIA	Susana Ortiz, Marcia Bernaldo De Quiros
HOSPITAL ZONAL ESQUEL	Omar Daher, Maria Celia Bischoff
CORDOBA	
HOSPITAL DE NIÑOS DE LA SANTISIMA TRINIDAD DE CORDOBA	Patricia Cristina Montanaro
HOSPITAL PRIVADO DE CORDOBA	Mario Vilaro, Claudio Abiega
HOSPITAL VILLA MARIA	Claudia Aimaretto De Costabella
CLÍNICA UNIVERSITARIA REINA FABIOLA	Marina Bottiglieri, Fabiana Berruezo
HOSPITAL GUILLERMO RAWSON	Ana Litvik, Teresa Nilda López
HOSPITAL INFANTIL MUNICIPAL DE CÓRDOBA	Liliana Lorena González, Lucrecia Sánchez
HOSPITAL PEDIÁTRICO DEL NIÑO JESÚS	Paulo Cortes, Patricia Gonzalez
HOSPITAL REGIONAL DOMINGO FUNES	Camisassa Lilia Norma
CORRIENTES	
HOSPITAL ANGELA IGLESIAS LLANO	Ana Maria Pato
HOSPITAL JUAN PABLO II	Sandra Pierlorenzi, Celia Gonzalez Omil De Monzon
ENTRE RIOS	
HOSPITAL MASVERNAT	Norma Yoya
HOSPITAL SAN MARTÍN DE PARANÁ	Mariana Boleas, Ileana Maillen Calgaro



FORMOSA	
HOSPITAL CENTRAL DE FORMOSA	Nancy Noemi Pereira, Natalia Edith Velazquez
HOSPITAL DE LA MADRE Y EL NIÑO DE FORMOSA	Maria Silvana Vivaldo
JUJUY	
HOSPITAL DE NIÑOS DR. HECTOR QUINTANA	Gabriela Granados
HOSPITAL PABLO SORIA	Maria Silvia Weibel, Silvia Grosso
LA PAMPA	
ESTABLECIMIENTO ASISTENCIAL GOBERNADOR CENTENO	Adriana Pereyra, Ivana Silveyra
HOSPITAL LUCIO MOLAS	Gladys Margarita Almada, Nahuel Scarone
LA RIOJA	
HOSPITAL DE LA MADRE Y EL NIÑO DE LA RIOJA	Contreras Karina
HOSPITAL REGIONAL "DR ENRIQUE VERA BARROS"	Sonia Beatriz Flores
MENDOZA	
HOSPITAL CENTRAL DE MENDOZA	Lorena Contreras, Leila Zuloaga
HOSPITAL PEDIÁTRICO DR. HUMBERTO NOTTI	Beatriz Cristina García, Pablo Porta
HOSPITAL TEODORO J SCHESTAKOW	Adriana Edith Acosta, Ada Zanuso
MISIONES	
HOSPITAL DE NIVEL III OBERA	Cristina Alicia Gonzalez, Erica Gerlach
HOSPITAL PROVINCIAL DE PEDIATRÍA "DR. FERNANDO BARREYRO"	Martha Helena Von Specht, Lorena Leguizamon
HOSPITAL SAMIC ELDORADO MISIONES	Ana María Miranda
NEUQUÉN	
HOSPITAL HELLER	Herman Sauer
HOSPITAL JUNIN DE LOS ANDES	Abel Zurschmitten, Miryam Britez
HOSPITAL PROVINCIAL NEUQUÉN DR. CASTRO RENDÓN	María Rosa Núñez, María Martha Schinchirimini
RÍO NEGRO	
HOSPITAL AREA CIPOLLETTI "DR. PEDRO MOGUILLANSKY"	Mariela Roncallo, Laura Pinoche
HOSPITAL ARTÉMIDES ZATTI	María Gabriela Rivollier, Irene Alonzo
HOSPITAL "FRANCISCO LOPEZ LIMA"- GENERAL ROCA	Daniela Alejandra Durany, Crombas Gonzalo
HOSPITAL ZONAL BARILOCHE	Sabrina De Bunder, Maria Laura Alvarez
SALTA	



HOSPITAL PÚBLICO MATERNO INFANTIL DE SALTA	Ana Berejnoi, Magdalena Maresca
HOSPITAL SAN VICENTE DE PAÚL	Amador Silvia Graciela
SAN JUAN	
HOSPITAL "DR. GUILLERMO RAWSON"	Marisa López, Cintia Amalric
HOSPITAL MARCIAL QUIROGA	Nancy Ruth Vega, Beatriz Eugenia Matus
SAN LUIS	
POLICLINICO CENTRAL DE SAN LUIS	Hugo Rigo, Garcia Julio Cesar
POLICLINICO REGIONAL JUAN D. PERON - VILLA MERCEDES	Carina Chirino, Veronica Panini
SANTA CRUZ	
HOSPITAL REGIONAL RIO GALLEGOS	Alejandra Vargas, Omar Belforte
HOSPITAL ZONAL CALETA OLIVIA "PADRE TARDIVO"	Josefina Mercedes Villegas, Miguel Castro, Gustavo Maglio
SANTA FE	
ABC HOSPITAL ESPAÑOL	Noemi Borda, Victoria Rucci
FACULTAD BIOQUIMICA ROSARIO, HTAL CENTENARIO	Patricia Marchiaro, Jorgelina Pérez
HOSPITAL DE NIÑOS "DR ORLANDO ALASSIA"	María Rosa Baroni, María Laura Zurbriggen
HOSPITAL DE NIÑOS V. J. VILELA	Adriana Ernst, Andrea Badano
HOSPITAL DR. J.M.CULLEN	Nagel Alicia, Mollerach Analía
HOSPITAL ROQUE SAENZ PEÑA	Graciela Alicia Arciero, Adriana Di Cosco
MATERNIDAD MARTIN- CEMAR - DSLAC	Borgo Monica Patricia, Diaz Maria Susana Del Lujan
SANTIAGO DEL ESTERO	
HOSPITAL REGIONAL "DR. RAMON CARRILLO"	Mariana Cragolino
TIERRA DEL FUEGO	
HOSPITAL REGIONAL DE USHUAIA	Gabriel Castro, Manuel Boutureira
HOSPITAL REGIONAL RIO GRANDE	Marcela Vargas, Alejandra Cristina Guerra
TUCUMÁN	
HOSPITAL ANGEL C. PADILLA	Amalia Del Valle Amilaga
HOSPITAL DE CLINICAS DR. NICOLAS AVELLANEDA	Norma Mercedes Cudmani
CENTRO DE MICROBIOLOGIA MEDICA	Humberto Eduardo Musa
HOSPITAL DEL NIÑO JESUS	Jose Daniel Assa, Merletti Graciela