



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
& 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



ANLIS Dr. C. G. Malbrán. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Antimicrobianos. Protocolo de Trabajo de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET ARGENTINA. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: ANLIS Dr. C. G. Malbrán, 2024. (ANLIS/INEI/PT-WHONET-ARG;2024)

Disponible en: <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/2603>



"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/)



PROTOCOLO DE TRABAJO

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

**Acordado en el "XXI Taller WHONET-Argentina"
CABA, Diciembre 2023**

**Inicio de vigencia desde: 01-01-24
Próxima revisión: antes del 31-12-24
PT-WHONET-ARG-2024**



INDICE

INTRODUCCIÓN	6
JUSTIFICACIÓN	6
OBJETIVOS DE LA RED WHONET ARGENTINA	7
MATERIALES Y MÉTODOS	7
PROTOCOLO DE TRABAJO	8
I. ENTEROBACTERALES (excepto enteropatógenos)	9
I.a. ENTEROBACTERALES (ETB) AISLADAS DE INFECCIÓN HOSPITALARIA (otros que <i>Salmonella</i> Y <i>Shigella</i>)	9
1. CEFAZOLINA	9
2. DETECCIÓN DE BLEE	10
3. CEFOXITINA	11
4. AZTREONAM	11
5. CARBAPENEMES.....	12
6. CIPROFLOXACINA	20
7. TIGECICLINA	20
8. CEFEPIME SENSIBILIDAD DOSIS DEPENDIENTE	21
9. NUEVAS DROGAS	21
10. POLIPÉPTIDOS	23
11. AMINOGLUCÓSIDOS.....	25
12. PIPERACILINA/TAZOBACTAM	26
13. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	26
I.b. INFECCIONES URINARIAS NO COMPLICADAS (Infección urinaria ambulatoria en pacientes sin patología de base)	29
1. CEFAZOLINA	29
2. RESISTENCIAS NATURALES	30
3. NOTA INTERPRETACIÓN INTERMEDIO	31
4. CIPROFLOXACINA	31
5. FOSFOMICINA	31
6. POLIPÉPTIDOS	31
7. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	32
II. ENTEROPATÓGENOS	33
II.a. <i>Salmonella</i> sp. y <i>Shigella</i> spp.	33
1. CEFPODOXIMA	33
2. AZITROMICINA	34
3. POLIPÉPTIDOS	34
4. CIPROFLOXACINA	34
5. FOSFOMICINA	34
6. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	34
II.b. <i>Campylobacter</i> spp.	35
II.c. <i>Vibrio cholerae</i>	36
III. OTROS BACILOS GRAM NEGATIVOS	37
III.a. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
III.b. <i>Acinetobacter</i> spp.	37
1. POLIPÉPTIDOS	37
2. CARBAPENEMES.....	38
3. SULBACTAM	40
4. MINOCICLINA	40
5. CEFTAZIDIMA	40
6. CEFTAZIDIMA /AC. CLAVULÁNICO.....	40
7. TIGECICLINA	40
8. NUEVAS DROGAS	40
9. AMINOGLUCÓSIDOS	42
10. PIPERACILINA/TAZOBACTAM	42
11. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	42
III.c. <i>Aeromonas</i> spp.	43



III.d. <i>Burkholderia cepacia</i>	44
III.e. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	44
IV. COCOS GRAM POSITIVOS	45
IV.a. <i>Staphylococcus</i> spp.	45
1. GLICOPÉPTIDOS.....	45
2. MACRÓLIDOS Y LINCOSAMINAS	46
3. CEFOXITINA/ OXACILINA	46
4. LINEZOLID.....	48
5. MENINGITIS.....	48
6. ORINA.....	48
7. TIGECICLINA	48
8. CEFTAROLINA	48
9. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	49
IV.b. <i>Enterococcus</i> spp.	49
1. GLICOPÉPTIDOS.....	50
2. TIGECICLINA	50
3. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	51
IV.c. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	51
1. MACRÓLIDOS Y LINCOSAMINAS	52
2. LEVOFLOXACINA	52
3. GLICOPÉPTIDOS.....	52
4. SISTEMAS AUTOMATIZADOS.....	52
IV.d. Otros estreptococos (no neumococos)	53
V. <i>Haemophilus</i> spp.	55
VI. <i>Neisseria meningitidis</i>	55
VII. <i>Recomendaciones para los participantes de la Red WHONET-ARGENTINA</i>	56
VIII. <i>Control de Calidad</i>	58
1. Controles de Calidad Externo	61
2. Control de Calidad Interno	61
3. Esquema (de mínima) sugerido para el control de discos.....	61
4. Sistemas automatizados	62
5. Control de calidad de las placas de agar Mueller Hinton	63
ANEXOS	65
Tabla 1. Puntos de corte no incluidos en el CLSI.....	65
Figura 1: Esquema de colocación de los discos para Enterobacterales	66
Figura 2: Flujograma para la detección e informe de BLEE en ETB por el método de difusión por discos ..	66
Figura 3. Detección de carbapenemasas en Enterobacterales	67
Figura 4. Confirmación fenotípica de carbapenemasas en Enterobacterales (CPEs).....	67
Figura 5. Predifusión rápida Aztreonam – Amoxicilina/clavulánico.....	68
Figura 6. Predifusión rápida Aztreonam – Ceftazidima/avibactam	69
Figura 7. Colocación de los discos para sinergias CZA-EDTA y ATM-APB.....	70
Figura 8. Esquema de colocación de los discos para <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	70
Figura 9. Esquema de colocación de los discos para <i>Acinetobacter</i> spp.....	71
Figura 10. Detección de carbapenemasas en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	71
Figura 11. Detección de carbapenemasas en <i>Acinetobacter</i> spp.....	72
Figura 12. Puntos de corte 2017 para ETB para la interpretación del DCMBrit	72
Figura 13. Detección de carbapenemasas en Enterobacterales. Panel CPO Phoenix	73
Figura 14. Detección de carbapenemasas en <i>Pseudomonas</i> spp. Panel CPO Phoenix	73
Figura 15. Detección de carbapenemasas en <i>Acinetobacter</i> spp. Panel CPO Phoenix	74
FIGURA 16. PARTICIPANTES DE LA RED WHONET-ARGENTINA	75



INTRODUCCIÓN

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 **93** laboratorios clínicos (ver figura 16) 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 (RAM) 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/category/analisis-de-ram/>).

JUSTIFICACIÓN

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.
- A nivel Global 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.

Analizar los datos de RAM a nivel local en cada uno de los laboratorios participantes y a nivel nacional en el LNR para generar estadísticas de vigilancia que contribuyan a contener la diseminación de la RAM.

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 MÉTODOS

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 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, predifusión de combinaciones de antimicrobianos, 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/wp-content/uploads/2024/01/Reglas-de-derivacion-2024.pdf>)



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

El presente protocolo incluye 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.

PROTOCOLO 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 WHONET realizado en **Diciembre del 2023**. En la presente edición se incorporaron algunas modificaciones en función a cambios en las normas CLSI vigentes. En rojo figuran las modificaciones introducidas a la versión previa del mismo.



I. ENTEROBACTERIALES (excepto enteropatógenos)

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

Antibiograma mínimo (tres placas) (n= 18)

1. Cefazolina (1)	2. Gentamicina (11)
3. Amoxicilina/ac. Clavulánico (2)	4. Amicacina (11)
5. Cefotaxima (2)	6. Trimetoprima/sulfametoxazol
7. Ceftazidima (2)	8. Meropenem (5)
9. Cefoxitina (3)	10. Aztreonam (4)
11. Piperacilina/tazobactam (12)	12. Cefepime (8)
13. Imipenem (5)	14. Ertapenem (5)
15. Ciprofloxacina (6)	16. Tigeciclina (7)
17. Ceftazidima/Avibactam (CZA 10/4µg) (9)	18. Imipenem/Relebactam (9) (desde 2024)

En productores de carbapenemasas probar:

19. Fosfomicina (5, nota)
20. Método de referencia/alternativo para evaluar la sensibilidad a COLISTIN (10)

En 2021 se eliminaron del protocolo los discos de colistín (COL) y Ceftolozano/Tazobactam (C/T) para dar lugar a los discos de Aztreonam (ATM) e Imipenem/ Relebactam (IMI/REL). **Este último, al momento de la confección de este documento, aún no se comercializa en nuestro país en la presentación de monodiscos, por lo que se incorporará al protocolo al momento que esté disponible.**

COLOCACIÓN ESTRATÉGICA DE LOS DISCOS. (FIGURA 1, al final del documento)

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

ESQUEMA DE MÁXIMA:

En centros de salud con elevada prevalencia de KPC y/o MBL, ensayar en el antibiograma inicial el disco de ácido borónico (APB) cerca del imipenem (IMI) y aztreonam y el disco de EDTA en las proximidades del disco de CZA.

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, 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 (µg/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	≥15	≤14	≤16	≥32
IUBNC ³	CFZ como predictor de cefalosporinas orales	No aplica				

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 ≥23/R ≤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 ≥15, R ≤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 ≥15, R ≤14 mm)

***incluir 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 ≥15mm) 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

Los puntos de corte de sospecha de BLEE son los que figuran en la Tabla 3A del documento M100S31 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. Para confirmar la presencia 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, ver figuras 1 y 2). 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"). En caso de obtener un resultado negativo para la presencia de BLEE interpretar el aislamiento con los puntos de corte que figuran en la Tabla 2A del CLSI vigente e informar R, I o S de acuerdo al halo obtenido para cada cefalosporina (ver figura 2).



CARGA EN WHONET: Registrar en el sistema los diámetros de la zona de inhibición correspondiente a CTX o CAZ sin considerar la deformación producida por el inhibidor.

CAMPO BLEE o ESBL: se debe cargar SIEMPRE el resultado ya sea "+ o -". Este es un campo crucial para los análisis de RAM por lo que se considera INDICADOR para evaluar la calidad de los datos de los laboratorios.

NOTA: NO UTILIZAR EL CAMPO BLEE_ARGENTINA (es un campo viejo que ya no tiene vigencia y no se incluye en el análisis Nacional).



INFORME DE BLEE: informar al cuerpo médico "**Resistencia a todas las penicilinas, cefalosporinas y monobactames (aztreonam) independientemente que se observe sensibilidad *in vitro* de cualquiera de ellas.**"

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) pero no por BLEE o BLEA.

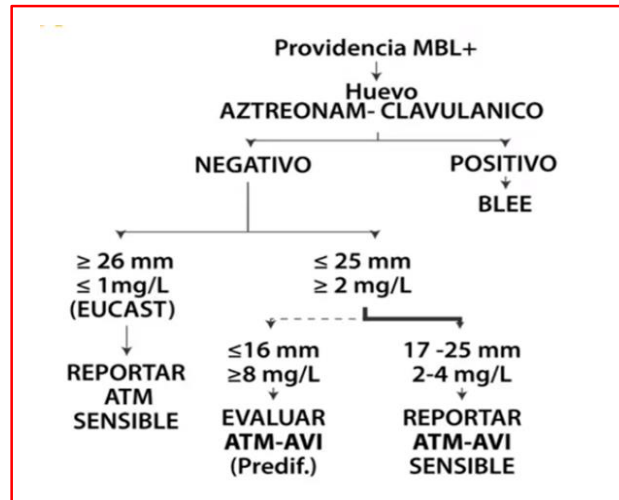
En el caso de *Klebsiella* spp, *Salmonella* spp, *Shigella* spp o *Proteus* spp la no sensibilidad a FOX puede evidenciar la presencia AmpC plasmídicas. Para diferenciar este mecanismo enzimático de la resistencia a FOX por impermeabilidad se debe ubicar un disco de APB entre los discos de CTX y FOX. Si se observa una deformación del halo de las cefalosporinas se confirma la presencia de AmpC plasmídica.

4. AZTREONAM

Aztreonam (ATM), es un antibiótico betalactámico de la familia de los monobactames que se destaca por permanecer activo frente a Enterobacterales productores de metalo-betalactamasas (MBL). Sin embargo, es común que estos gérmenes produzcan más de una enzima (BLEE, KPC, hiperproducción de AmpC) que tengan actividad sobre ATM, por lo cual las guías IDSA de tratamiento de infecciones por bacilos Gram negativos MDR proponen su asociación con inhibidores de beta-lactamasas de última generación para el tratamiento de infecciones por BGN productores de MBL.

En aislamientos productores de MBL **sensibles a ATM** por punto de corte, se **debe descartar la producción de BLEE/AmpC** antes su reporte, especialmente en la tribu Proteaeae, donde se puede observar halos >25mm en los coproductores de MBL y BLEE/AmpC. Para detectar la presencia de BLEE/AmpC, se debe observar si hay deformación en el halo de ATM en cercanía de los discos de AMC y APB. En caso, de que la disposición de estos discos en el antibiograma primario no permita interpretar la sinergia, se debe repetir ajustando la distancia según la fórmula del punto 5.2.1. **En *Providencia* la sinergia con APB puede dar falsos positivos debido a su AmpC cromosómica, por lo**

que en esta especie si la sinergia con AMC es negativa se deben utilizar las puntos de corte de EUCAST para ATM ($S \geq 26\text{mm}$ o $\leq 1\mu\text{g/ml}$) para informar S o R como se detalla en el siguiente algoritmo.



En aislamientos productores de MBL **resistentes a ATM**, se debe investigar la sensibilidad a ATM-AVI utilizando la predifusión rápida detallada en el punto 5.3.3 para informarlo como opción de tratamiento, **excepto en Providencia donde se debe proceder según el algoritmo de arriba**.



CARGA EN WHONET: en los aislamientos productores de MBL informar + ó – en el campo de BLEE/ESBL si se observa sinergia aztreonam-clavulánico ya sea en la prueba de doble disco o en el método de predifusión rápida de ATM – AMC.



INFORME DE BLEE/AmpC: en aquellos aislamientos productores de BLEE/AmpC con halos o CIMs de sensibilidad a ATM, se debe informar como RESISTENTE y reportar el resultado de la Predifusión de ATM-AVI.

5. CARBAPENEMES

5.1. DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS

La resistencia a carbapenemes en ETB es cada vez más frecuente. Para su sospecha, se utilizan las señales de alarma del algoritmo propuesto por el LNR para detección de carbapenemasas (Figura 3):

- **IMIPENEM (IMI) $\leq 22\text{ mm}$ o $\geq 2\mu\text{g/ml}$** para ETB en general
- **IMI $\leq 24\text{ mm}$** en *Salmonella spp*
- **MEROPENEM (MER) $\leq 22\text{ mm}$ o $\geq 2\mu\text{g/ml}$** en tribu Proteeae debido a que las cepas salvajes presentan sensibilidad disminuida a IMI.

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.

- **Ertapenem (ERTA) + piperacilina/tazobactam (PTZ):** ERTA detecta mejor las carbapenemasas con bajos niveles de resistencia a los carbapenemes (principalmente las



de clase OXA, y algunas KPC y NDM no detectadas con IMI y MER), pero presenta baja especificidad. En 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) que pueden presentar un fenotipo de resistencia escalonada a los carbapenemes muy similar al de las carbapenemasas del tipo OXA-48 like. **Para recuperar especificidad se recomienda evaluar el resultado de ERTA junto con el de PTZ** Esta combinación permitiría sospechar aquellas serino carbapenemasas, 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 de la tabla 5.1.

- **CEFTAZIDIMA-AVIBACTAM (CZA):** la resistencia a CZA se incluyó en el algoritmo como marcador de tamizaje inicial para la mejorar la detección de MBLs o mutantes de KPC.



En los últimos dos años hemos detectado la presencia de carbapenemasas del tipo OXA-48 y OXA-181 en algunos Hospitales del país por lo que en la Tabla 5.1 incluimos las características diferenciales con OXA-163.

Tabla 5.1. : Indicadores fenotípicos para diferenciar OXA-163 y OXA-48/181 de BLEE/impermeabilidad

Marcador fenotípico	OXA-163 (Kpn, Eco, Ecl, Sma)	OXA-48/181	CTX-M/ impermeabilidad
ERTA*	I, R (>95%)	I, R	S, I, R
PTZ	<=15 mm >=128 μ g/ml o dilución más alta del método automatizado (100%)	<=15 mm >=128 μ g/ml o dilución más alta del método automatizado (100%)	Variable. (excluir OXA si halo >15 mm o CIM < 128 μ g/ml)
CAC-CAZ	<=3 mm (85%)	Variable	>=4 mm (85%)
Blue CARBA /Carba NPd / mCIM	Negativo (80%) (Reportar carbapenemasa si el resultado es positivo)	POSITIVO	Negativo (100%)
THT	POSITIVO	POSITIVO	VARIABLE
Disco combinado MER-TAZ (DCM Brit)	< 5 mm de incremento respecto de MER	< 5 mm de incremento respecto de MER	>= 5 mm de incremento respecto de MER
IC (inmunocromatografía)	Positiva (hay kits que discriminan OXA-163 de OXA-48)	Positiva (hay kits que discriminan OXA-163 de OXA-48)	Negativa (100%)
Temocilina	Variable	≤ 12mm (alto VPN valores. Halos >12mm excluyen OXA-48/181)	Variable
RELEBACTAM	Inhibible	No inhibible	Inhibible



* En el caso particular de la **tribu Proteae**, el disco de ERTA no detecta 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. MÉTODOS CONFIRMATORIOS DE CARBAPENEMASAS

Ante sospecha de presencia de carbapenemasa, ésta debe confirmarse mediante alguno de los métodos que figuran a continuación siguiendo las recomendaciones del esquema de confirmación fenotípica de la Figura 4 (al final del documento).

5.2.1 SINERGIAS - DISTANCIA AJUSTADA ENTRE DISCOS

Frente al aislamiento de una cepa con sospecha de carbapenemasa 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 = $16/2 + 6/2 + 5 = 16\text{mm}$

Esta fórmula es de utilidad para todo tipo de sinergia.

5.2.2. MÉTODO 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 revaluados post marketing en el LNR y se muestran en la Figura 12.

NOTA: Solo valorar los resultados del DCM-Brit si el halo de MER del kit es $\leq 22\text{mm}$. Halos de MER $\geq 23\text{mm}$ pueden conducir a falsos positivos para el fenotipo OXA-48 like.

5.2.3. MÉTODOS COLORIMÉTRICOS

Incluye Blue-Carba test o Carba NP-Direct o cualquiera de sus variantes comerciales (Rapidec, Rapid CARB, Blue Kit, **Carba Color Test**, BlueCarba Disk, Phoenix CPO, etc). Son métodos de detección rápida basados en la capacidad de las carbapenemasas 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/protocolos-de-metodos-fenotipicos/>

BlueCarba Disk, **Carba Color Test** y Phoenix CPO permiten la clasificación de las carbapenemasas en Clase A, B y D.

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

Es una reversión del método microbiológico, Test de Hodge Modificado, que pone de manifiesto la capacidad de las carbapenemasas de hidrolizar un carbapenem (generalmente MER). El agregado de Tritón exalta 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:

El mCIM consiste en pre-incubar la cepa en estudio en un caldo con un disco de MER. La presencia de carbapenemasa se evidencia ubicando este 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 mCIM. Ver protocolo según CLSI M100 Ed. 33-Tabla 3C (2023).

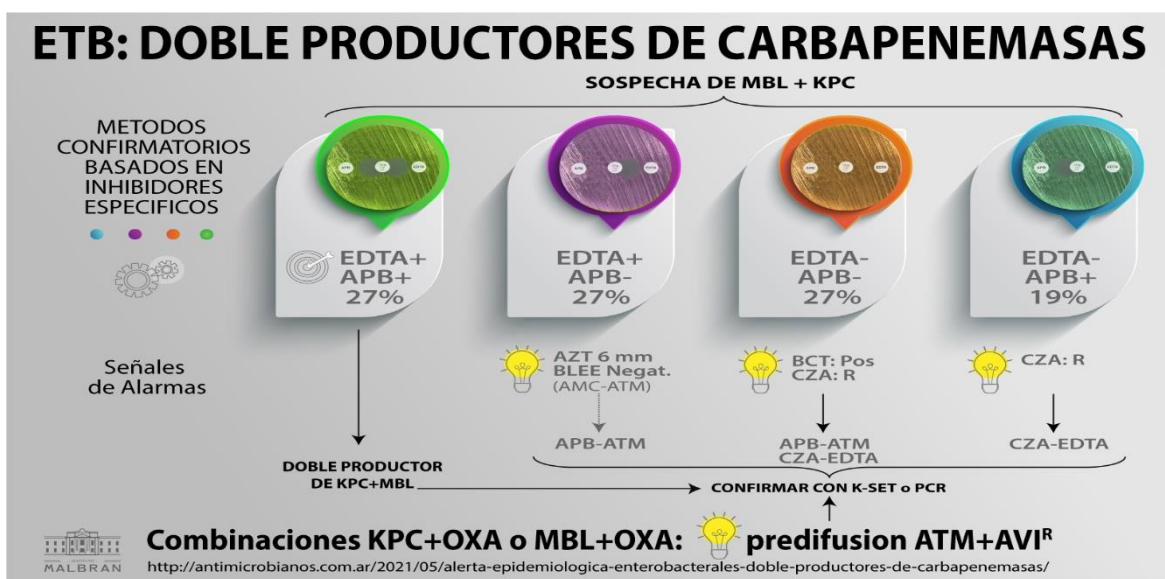
5.3. DETECCIÓN DE ETB DOBLE PRODUCTORES DE CARBAPENEMASAS.

Los aislados productores de **KPC+NDM** constituyen un doble desafío de diagnóstico y tratamiento, debido a que algunas pruebas fenotípicas para la identificación de la carbapenemasa adicional pueden fallar; y por otra parte, la coproducción de NDM confiere resistencia a ceftazidima avibactam (CZA) dificultando la elección del tratamiento antimicrobiano óptimo.

Ver "Alerta epidemiológica: Emergencia de Enterobacteriales Dobles Productores de Carbapenemasas", (<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/05/Alerta-epidemiol%C3%B3gica-dobles-productores-de-carbapenemasa-COVID-19-v4.pdf>).

El tamizaje de doble productores comienza con la "sospecha de carbapenemasa" según el Algoritmo de detección de carbapenemasas. Las sinergias con EDTA y APB dan resultados variables: 46% de los aislamientos dan alguna sinergia positiva, 27% dan ambas sinergias positiva (revelando la presencia de ambas enzimas) y 27% dan sinergias negativas (falso positivo para carbapenemasa clase D o BLEE/AmpC +impermeabilidad). Se debe complementar el algoritmo de detección de carbapenemasas con otras señales de alarma como la **resistencia a CZA y aztreonam** entre otras, como se muestra en el cuadro a continuación.

De presentar alguna de las señales de alarma, se deben realizar pruebas fenotípicas, inmucromatográficas o genotípicas específicas para confirmar los dobles productores de KPC y NDM.





5.3.1. Métodos ad hoc para confirmación fenotípica de KPC+MBL:

- **COLOCACIÓN ESTRATÉGICAS DE DISCOS:**
 - ATM-APB: colocar a 10 mm centro a centro. Contribuye a la detección de KPC en presencia de NDM.
 - EDTA-CZA: colocar a 15 mm centro a centro (podrían requerir de mayor distancia si EDTA presenta halo). Contribuye a diferenciar si la resistencia a CZA se debe a MBL u otros mecanismos.Ambas sinergias positivas indican coproducción de KPC+MBL.
- **COLOCACIÓN ESTRATÉGICA DE LOS DISCOS DE DCMBrit[®]** (Discos combinados de meropenem, Britania)
Si con DCM Brit **se obtuvo un resultado para Clase D**, enfrentar los discos de MER+PB y MER+EDTA: la sinergia positiva indicará la coproducción de KPC+MBL. La ausencia de sinergia, confirma la presencia de una carbapenemasa Clase D.

5.3.2. Confirmación molecular o inmunocromatográfica

- K-SeT quintuple (NG-Biotech, MedicaTec, Targets KPC, NDM, VIM, IMP y OXA-48like) (dejar reposar la suspensión bacteriana con el buffer de extracción unos 15 min previos a la siembra del test)
- K-Set K.O.O (Coris, Britania, Targets KPC, subflia OXA-48-like y subflia OXA-163-like)
- Para las técnicas moleculares, se podrán emplear sistemas comerciales o desarrollados in-house. (<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/01/Detecci%C3%B3n-CBP-Multiplex.pdf>)

5.3.3. Determinación de la sensibilidad a ATM en combinación con inhibidores:

Las recomendaciones para el tratamiento de infecciones por gérmenes productores de MBLs, sugieren utilizar CZA 2.5 gr q8h junto con ATM 2 gr q8h, infundidos simultáneamente en 3 hs (Tamma PD, CID 2020) (azteonam avibactam, AZA). A la fecha, no existen puntos de corte para la interpretación de las pruebas de sensibilidad a AZA que sean específicos para esta dosificación, por lo que en el LNR se validó un punto de corte epidemiológico utilizando una colección de 696 aislamientos de CRE (Pasteran F y cols., ECCMID 2020). **En base a este trabajo, se estableció como cepas salvajes aquellas que presenten CIM de AZA ≤ 1.0 $\mu\text{g/ml}$.**

- **PRE-DIFUSIÓN RÁPIDA de CZA-ATM:**
En el LNR, se validó esta metodología para el tamizaje de la sensibilidad a AZA utilizando el punto de corte epidemiológico (WT CIM ≤ 1.0 $\mu\text{g/ml}$) para los estudios de correlación.
La pre-difusión rápida consiste en predifundir el inhibidor (disco de CZA 14 μg) durante 15 minutos a temperatura ambiente, en un MH previamente hisopado con el inóculo bacteriano. A continuación, se remueve el disco de CZA y se coloca en el mismo lugar un disco de aztreonam (30 μg) continuando la incubación tradicional (16-18 hs a 35°C). Por el momento sólo se estandarizaron los puntos de corte con discos de CZA de Britania. Otras marcas de discos pueden presentar variaciones en la predifusión del avibactam y requerir de futuras modificaciones en la metodología descripta. **Cabe aclarar que en valores cercanos al punto de corte pueden encontrarse diferencias (falsas sinergias negativas) en los resultados según las marcas de discos de ceftazidima/avibactam, por lo que los resultados "no salvajes" deberían confirmarse con otras metodologías (disco o tira de gradiente de aztreonam en placa de Mueller Hinton con una concentración de avibactam de 4 $\mu\text{g/ml}$).**



La resistencia a AZA es inusual y debe ser confirmada por el LNR.

Ver el detalle del procedimiento en la figura 6.

- **PRE-DIFUSIÓN RÁPIDA de ATM-AMC:**
Posee el mismo fundamento que para AZA pero se reemplaza el disco de CZA por el de AMC. Este método permite evaluar la sensibilidad a la combinación ATM /AMC, útil frente aislamientos productores de MBL+BLEE.
Ver el detalle del procedimiento en la figura 7.



CARGA DE RESULTADOS DE PREDIFUSIÓN CZA-ATM Y AMC-ATM: para contar con campos donde cargar estos resultados en 2021 se deben agregar a la configuración de la base los discos de **Avibactam (AVB_ND)** y **Clavulánico (CLA_ND)**. Las instrucciones para realizarlo se encuentran en <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/07/Instructivo-para-la-modificaci%C3%B3n-de-la-base-WHONET-2021.-v05.05.pdf>

RESUMIENDO: Realizar la búsqueda de KPC+MBL frente a las siguientes señales de alarma:

- aislamientos sospechados de KPC con resistencia a CZA,
- cepas sospechadas de MBL (EDTA positivas), resistentes a ATM y BLEE negativa (sinergia ATM-CLA negativa),
- aislamientos con sospecha de carbapenemasa y negativos para ambas sinergias (EDTA/APB) (sugestivo de clase D) y resistentes a CZA y BCT (o similares) positivo.



5.4. REGISTRO EN WHONET DE CEPAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS

TODAS LAS ETB CON SOSPECHA DE CARBAPENEMASA (al menos algún carbapenem afectado o alarma de OXA-48like en Tribu Proteae según los algoritmos del LNR) **DEBEN TENER COMPLETOS LOS SIGUIENTES CAMPOS, SIN EXCEPCIÓN:**

- **MECANISMO DE RESISTENCIA** (si no resulta carbapenemasa igual se debe llenar el campo con la opción "NO CARBAPENEMASA").
- **SENSIBILIDAD A COLISTIN** (ver sección 10.2)
- **FOSFOMICINA:** halos o valores confirmados de CIMs (VER nota FOSFOMICINA)
- **TIGECICLINA:** halos o valores confirmados de CIMs (Ver sección 7 y 13)
- **CZA:** halos del disco 10/4ug o CIMs (Ver sección 9.1)
- **IMR:** halos o CIMs cuando esté disponible (Ver sección 9.3)
- **BLEE: solo en las carbapenemasas del tipo MBL y en las CRE NO-CPE**
- **Predifusiones CZA-ATM y AMC-ATM: en productores de MBL o Doble Productores** (Ver sección 5.3.3)
- **IC/PCR: si se realiza o si se deriva**

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



5.4.1. MECANISMO DE RESISTENCIA A CARBAPENEMAS: 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:

1. Sinergia con APB positiva **y** sensibilidad a CZA **y/o**
2. Blue Carba Disk/ **Carba Color Test**/mCIM-eCIM positivo para Clase A **y** sensibilidad a CZA
3. CPO positivo para Clase A **y** sensibilidad a CZA (ver figura 13)
4. IC / PCR positiva para KPC **y/o**
5. Aislamientos CZA R caracterizados como mutantes de KPC o coproducción de KPC+ PER.

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

1. método colorimétrico positivo sin sinergia con EDTA **y** sensibilidad a CZA **o**
2. Sinergia con APB positiva **y** falta de inhibición por cloxacilina **y** sensibilidad a CZA **o**
3. Ídem 2 a 5 del ítem anterior

✓ **Tipo MBL:**

1. Sinergia con EDTA / ác. Dipicolínico positiva habiendo descartado doble productor de carbapenemasa, **y/o**
2. Δ mCIM - eCIM positiva, **y/o**
3. PCR / IC positiva para MBL
4. Blue Carba Disk positivo para clase B habiendo descartado doble productor de carbapenemasa
5. **Carba Color Test positivo para clase B**
6. CPO positivo para Clase B Y resistencia a CZA habiendo descartado doble productor de carbapenemasa (ver figura 13)

✓ **Tipo OXA:**

1. THT positivo con DCM con fenotipo OXA habiendo descartado doble productor de carbapenemasa, **y/o**
2. PCR / IC positiva para OXA.
3. Blue Carba Disk positivo para clase D habiendo descartado doble productor de carbapenemasa
4. CPO positivo para Clase D habiendo descartado doble productor de carbapenemasa (ver figura 13)
5. **No incluir aislamientos que no cumplan estas condiciones.**

✓ **Carbapenemasa:** incluye las ETB donde se detecta actividad enzimática con métodos específicos sin sinergia con los inhibidores, que presenten:

1. Método colorimétrico **y/o** mCIM positivos **y** SIN sinergia con inhibidores o SIN resultado **y** sensibles a CZA (un 10% de los aislados con OXA-163 pueden cursar con R a CZA). **Estos aislamientos deberían ser enviados al LNR para su confirmación.**
2. **No incluir ETB con THT positivo sin hacer alguna otra prueba confirmatoria debido al alto porcentaje de falsos positivos.**



- ✓ **Combinación de MBL y KPC:** ETB que presenten señales de alarma para la producción de MBL+KPC y se confirmen con pruebas fenotípicas o moleculares.
 1. Sinergia positiva con EDTA y APB con carbapenemes
 2. Sinergia positiva con CZA-EDTA y ATM-APB
 3. Método colorimétrico y/o mCIM positivos y DCM Brit con resultado de carbapenemasa tipo OXA y **sinergia POSITIVA entre los discos combinados de MER+EDTA y MER+PB**
 4. PCR o IC positiva para ambas enzimas
 5. **Estos aislamientos deberían ser enviados al LNR para su confirmación.**

- ✓ **Otras combinaciones de carbapenemasas:** se modifica la opción "Combinación de carbapenemasas" por esta nueva denominación.
 1. ETB en las que por PCR o IC se haya determinado la presencia de más de una carbapenemasa que no sea MBL+KPC.

- ✓ **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:
 1. THT **negativo** y mCIM negativo/método colorimétrico negativos, o
 2. THT **positivo** y mCIM / Método colorimétrico negativos **con IC / PCR negativa para OXA-48 like**
 3. 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 13)



5.4.2. 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:

HISOPADOS DE VIGILANCIA O COLONIZACIONES. 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 2024**" <http://antimicrobianos.com.ar/wp-content/uploads/2024/01/Reglas-de-derivacion-2024.pdf> donde constan los fenotipos que deben enviarse.



LLENADO DEL CAMPO DE BLEE EN PRODUCTORES DE CARBAPENEMASAS:

SE DEBE CONSIGNAR EL RESULTADO DE BLEE (+ o -) en los siguientes casos:



- ETB productores de MBL
- ETB R a carbapenemes carbapenemasa negativa

NO HACE FALTA COMPLETARLO en:

- ETB productoras de KPC / OXA-48 like / DOBLES PRODUCTORES (difícil determinar fenotípicamente la presencia de BLEE)



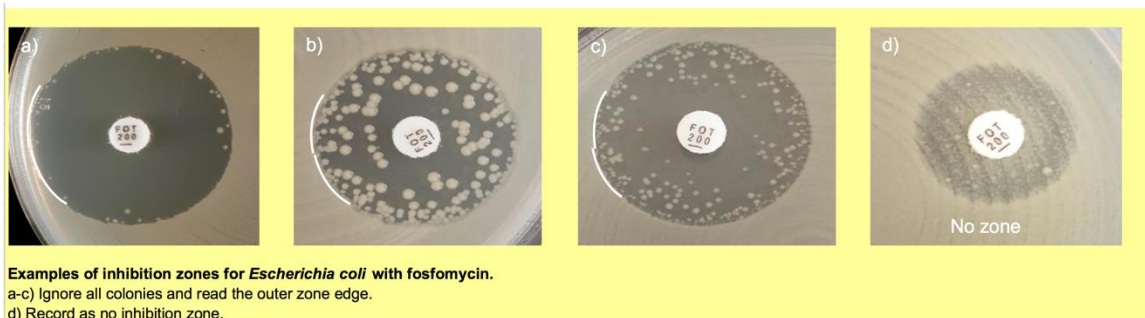
NOTA FOSFOMICINA:

En casos de ETB intrahospitalarias se debe probar el disco de fosfomicina e informar utilizando los puntos de corte parenterales. Existen dos formatos comerciales para este disco: fosfomicina 50 µg/ glucosa-6-P 50µg y fosfomicina 200 µg/ glucosa-6-P 50 µg 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 200 µg, así unificamos la carga en toda la Red.

Ejemplo de lectura de discos de FOS según EUCAST 2017:



6. 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 µg/ml o halos \geq 26mm.

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

7. 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 para pacientes entre 8 y 17 años.

Ante las recomendaciones de EUCAST 2019, 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 ≤ 0.5 µg/ml, R ≥ 1 µg/ml (Dosis Estándar*)

DISCO: S ≥ 18 mm, R ≤ 17 mm sólo para *E. coli* (Dosis Estándar*)

Aislamientos con CIMs de hasta 1µg/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 ≤ 1 µg/ml, R ≥ 2 µg/ml

DISCO: S ≥ 21 mm, I* 20-17 mm, R ≤ 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 Proteeae:

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

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.

8. CEFEPIME SENSIBILIDAD DOSIS DEPENDIENTE

Para el informe de cefepime, referirse a la Tabla 2A y Apéndices E y F del documento M100S31 del CLSI.

9. NUEVAS DROGAS

9.1. CEFTAZIDIMA / AVIBACTAM (CZA)

Si bien CZA se debe probar en todos los ETB IH, solo se debe informar en aislamientos productores de KPC y OXA-48 like. El contenido de drogas del disco de CZA (10/4 µg) 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), cefalosporinas 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.

A partir de estudios de correlación entre CIM y discos con distinta carga realizados en el LNR (Pasteran et al. ECCMID 2019). Se recomienda el uso de los discos con carga 10/4µg utilizando los puntos de corte del EUCAST.

CZA	Disco (mm)			CIM (µg/ml)	
EUCAST	10/4 µg	S ≥ 13	R ≤ 12	S ≤ 8/4	R ≥ 16/4**
CLSI *	30/20 µg	S ≥ 21	R ≤ 20		

*No se recomienda el uso de los discos con carga 30/20 µg. Si sólo se dispone de ellos, informar únicamente los resultados sensibles y confirmar los resistentes con otra metodología. **Este resultado no debe cargarse en WHONET.**

**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 16µg/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 µg, y si ellos no se encuentran disponibles en su institución, repetir el método empleado).

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

<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	Disco (mm)			CIM (µg/ml)	
CZA	10/4 µg	Valor deseable: 21	Rango: 18-24	Valor deseable: 0.5-1	Rango: 0.25-2



SOLO DEBE CARGARSE EN LA BASE WHONET los valores de los halos de difusión de CZA con carga 10/4 ug en el campo de antibiótico con código CZA_ED10 (Ceftazidima/Avibactam_EUCST_DISK_10/4ug).

Derivar al LNR:

Los aislados NO MBL con RESISTENCIA CONFIRMADA a CZA, o con colonias dentro del halo/elipse de CZA.

9.2. CEFTOLOZANO / TAZOBACTAM (C/T)

Debido a la necesidad de probar otros antimicrobianos y para no aumentar el número de placas en el antibiograma mínimo, dejaremos de probar C/T en Enterobacterales.

9.3. IMPENEM / RELEBACTAM (IMR)

Relebactam es un potente inhibidor de betalactamasas (diazabiciclooctano –DBO-), no-betalactámico, derivado del avibactam. Posee actividad inhibitoria frente a BLEE, AmpC, carbapenemasas de clase A (KPC), OXA-163 (pero no OXA-48) y potencia la actividad del imipenem frente a la *P. aeruginosa*. No inhibe carbapenemasas de clase B (MBL).

La combinación imipenem-cilastatina/relebactam es una buena opción para el tratamiento de



infección por Bacilos Gram Negativos productores de carbapenemasas de clase A, BLEE, AmpC y OXA-163, pero no presenta actividad frente a productores de MBL ni frente a *Acinetobacter* spp. La droga fue aprobada por la FDA para su uso en infección urinaria, infección abdominal complicada, neumonías asociadas a ventilador y neumonías intrahospitalarias y para el uso de infecciones debidas a organismos aerobios Gram-negativos en adultos con opciones de tratamiento limitadas.

Si bien al momento de esta publicación no se cuenta con discos de IMR en Argentina, se ha incorporado al protocolo para que se comience a probar cuando los monodiscos estén disponibles para su testeo in vitro.

En CLSI se dispone de puntos de corte para el método de difusión con discos (10/25µg) y de CIM para Enterobacterales (excepto *Morganella* spp, *Proteus* spp. y *Providencia* spp.) y *Pseudomonas aeruginosa*.



La definición del estándar (CLSI o EUCAST) para interpretar los discos de IMR se resolverá cuando estén disponibles los discos comerciales.

10. POLIPÉPTIDOS

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

Es sabido que la difusión con discos de COL es **inaceptable para guiar un tratamiento clínico**, debido a esto en 2021 eliminamos el disco de colistín del antibiograma de Enterobacterales de infecciones intrahospitalarias para dar lugar a otras drogas más necesarias.

Los Sistemas Automatizados y el Método Epsilométrico, presentan porcentajes inaceptables de EVM (errores muy mayores o falsos sensibles) para COL, por lo que deben confirmarse los valores de sensibilidad utilizando los **métodos alternativos** recomendados más adelante. **Los aislamientos de ETB 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 ($\leq 3\%$).

Es fundamental que en todos los pacientes en que se vaya a utilizar COL dentro del esquema de tratamiento se disponga de un resultado certero (con un método avalado por el LNR descriptos en el punto 10.1) y oportuno (junto con el antibiograma inicial).

Los hospitales pueden elegir el método que mejor se adecúe a su realidad, y probarlo en forma rutinaria a todos los ETB de infecciones intrahospitalarias o solo a aquellos pacientes de unidades críticas. Incluso se puede realizar la prueba en una segunda instancia frente a aislamientos multirresistentes (MR), pero sabiendo que este tiempo de demora puede ser crítico para la recuperación del paciente.

10.1. MÉTODOS PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD A COLISTIN

Para poder informar la sensibilidad a colistín* se debe evaluar su actividad por algún **método de referencia**:

- micro o macrodilución en caldo
- dilución en agar
- Microscan
- Sensititre

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.



10.2. CAMPO SENSIBILIDAD A COLISTIN

La función de este campo es poder **analizar fácilmente la sensibilidad a COL** en los aislamientos con resistencia a los carbapenemes. **TODOS LOS BGN CON RESISTENCIA A CARBAPENEMES** deben tener cargado en este campo **el resultado de las pruebas de sensibilidad a COL**.

SE DEBE CARGAR:

- Resultados de métodos de referencia
- Resultados de métodos alternativos
- Sólo resultados de **RESISTENTE** por Vitek 2C, Phoenix o método epsilométrico.

NO SE DEBE CARGAR:

- Resultados de difusión con discos
- Resultados de **SENSIBLE** obtenidos por Vitek 2C, Phoenix o método epsilométrico.

COMO CARGAR:

- 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. Esta opción no debe incluirse en el informe clínico, se debe repetir la determinación por el mismo u otro método alternativo y se cargará en el campo la interpretación que se informe al médico.

Si el laboratorio prueba algún método de referencia/alternativo en forma sistemática a todos los BGN, sugerimos llenar este campo para todos BGN y no solo para los R a carbapenemes.

10.3. PUNTOS DE CORTE DE COLISTIN

Cuando CLSI reincorporó los puntos de corte clínicos en 2020, eliminó la categoría Sensible dejando sólo la posibilidad de informar Intermedio o Resistente. A pesar de comprender y considerar válidas las razones de esta modificación, desde el LNR consideramos que el informe de Intermedio para polipéptidos genera incertidumbre y envía un mensaje poco claro para el cuerpo médico, sobre todo considerando que se trata de una droga tan relevante en nuestro país para el tratamiento de gérmenes multiresistentes.

Por esta razón desde el LNR seguimos utilizando la normativa **EUCAST e incorporamos las modificaciones propuestas en el año 2022:**



- Enterobacterales y *Acinetobacter* spp.: **Sensible $\leq 2\mu\text{g/ml}$, Resistente $\geq 4\mu\text{g/ml}$**
- *Pseudomonas* spp. **Sensible $\leq 4\mu\text{g/ml}$, Resistente $\geq 8\mu\text{g/ml}$.**

Para más detalles ver: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2022/04/NOVEDADES-CLSI-2022.pdf>



10.4. RECOMENDACIÓN PARA EL INFORME DE COLISTIN (LNR)

- Se sugiere informar SENSIBLE o RESISTENTE según el resultado del Método de Referencia/Alternativo utilizado.
- 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 de referencia o alternativo.
- **Si se utiliza un método de CIM, recomendamos utilizar los puntos de corte del EUCAST 2022 descritos en el punto 10.3.**
- 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".

10.5. 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.



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:

- únicamente los aislamientos de *E. coli* resistentes a COL por cualquiera de los métodos sugeridos por el LNR, SIN CARBAPENEMASA ADQUIRIDA ASOCIADA.

11. AMINOGLUCÓSIDOS

En la edición 2023 de CLSI se produjeron varios cambios respecto a los aminoglucósidos tanto para Enterobacterales como para *Pseudomonas aeruginosa*. Estos cambios obedecen a la revisión de los puntos de corte en base a los parámetros PK/PD, de manera de asegurar que con las dosis recomendadas se logre alcanzar el parámetro necesario para un tratamiento exitoso. En Enterobacterales esto implica un cambio en el punto de corte para gentamicina, tobramicina, y ampicacina, los cuales tienen como propósito evitar fallas de tratamiento.



Se debería adicionar un comentario al informe: "Se recomienda el uso de aminoglucósidos en



terapia combinada, excepto para infecciones del tracto urinario donde puede ser utilizado como monoterapia”.

CLSI 2023	Difusión (mm)			CIM (ug/ml)		
	S	I	R	S	I	R
GENTAMICINA	≥18	15-17 [^]	≤14	≤2	4 [^]	≥8
AMICACINA	≥20	17-19 [^]	≤16	≤4	8 [^]	≥16
TOBRAMICINA	≥17	13-16 [^]	≤12	≤2	4 [^]	≥8

Recordar que el símbolo “ ^ ” (caret) acompañando la categoría intermedia, implica que la droga tiene el potencial de concentrar en el tracto urinario.

Tobramicina aún no está disponible en Argentina por lo que, por el momento, no va a ser incorporado al protocolo de vigilancia.

12. PIPERACILINA/AZOBACTAM

En la edición CLSI 2022 se modificó tanto el punto de corte de difusión como el punto de corte de dilución para piperacilina/tazobactam. Esta modificación incluye un reemplazo de la categoría intermedia por SDD (sensibilidad dosis dependiente), y obedece a que los puntos de corte que estaban vigentes hasta 2021 no habían sido calculados teniendo en cuenta los parámetros PK/PD y las formas optimizadas de administración de esta droga y no permitían alcanzar los parámetros adecuados para asegurar éxito de tratamiento. Numerosos trabajos marcan la limitada eficacia de la droga para aislamientos con CIM ≥16 µg/ml. Sería importante indicar en el informe cuales son las dosis que correlacionan con la CIM de sensibilidad y cuáles son las dosis aumentadas (SDD) que permiten alcanzar los parámetros para un tratamiento óptimo con piperacilina/tazobactam. Por ejemplo: “Los puntos de corte de sensibilidad están basados en un esquema de dosis de 3.375-4.5g cada 6hs en infusión de 30 min. Los puntos de corte de Sensibilidad Dosis Dependiente están basados en un esquema de dosis de 4.5g cada 6hs en infusión de 3hs o de 4.5g cada 8hs en infusión de 4 hs.”

Piperacilina/ tazobactam	Enterobacteriales					
	Difusión (mm)			CIM (µg/ml)		
CLSI 2022	S	SDD	R	S	SDD	R
	≥25	21-24	≤20	≤8/4	16/4	≥32/4

13. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

La situación ideal en el diagnóstico de RAM sería contar con una metodología que proporcionara toda la información necesaria para cumplir con todos los requerimientos diagnósticos y de vigilancia que demandan los laboratorios que pertenecen a la Red WHONET. En el caso de los sistemas automatizados no existe un diseño de panel/tarjeta que abarque todos los antimicrobianos incluidos en el Protocolo de Trabajo por lo que casi siempre hay que probar discos adicionales para poder cumplirlo. Para adecuarnos a los recursos disponibles en cada hospital, proponemos tres esquemas de trabajo: un **esquema de máxima** que cumple con todos los antimicrobianos solicitados en el Protocolo, y dos **esquemas de mínima** según la sensibilidad esperada a carbapenemes en **Enterobacteriales (ETB) y Pseudomonas spp.**



En el **esquema de máxima**, se incluyen todos los antimicrobianos que complementan lo requerido en el Protocolo de Trabajo de la Red WHONET Argentina, por lo laboratorios deberán agregar la prueba de algunos discos y la prueba de COL (ej. COL Drop).

El **esquema de mínima** se diseñó para aquellos laboratorios que no puedan cumplir con el esquema de máxima. Se redujo la cantidad de pruebas por fuera del panel/tarjeta al mínimo sin que perjudique la calidad diagnóstica y que afecte lo menos posible la información requerida para la Vigilancia Nacional. Los laboratorios que opten por el esquema de mínima deberán utilizar la opción de **cepas sensibles a carbapenemes o el de cepas resistentes a carbapenemes** según la realidad epidemiológica de su institución o en aquellas de mayor complejidad deberán adecuar la elección según la epidemiología de las distintas salas. En el caso del **esquema de mínima de cepas resistentes a carbapenemes** se agrega la prueba de antimicrobianos utilizados para el tratamiento de microorganismos resistentes no incluidos en los paneles/tarjetas, o repetición de aquellos que no tienen buen desempeño.

Cada laboratorio puede trabajar con el esquema que más se adecue a sus circunstancias.

Si los laboratorios incluyen más drogas de las que están en el protocolo deberán incluirlas en la base de datos.

Es indispensable que se ensayen y se carguen en el software WHONET las pruebas complementarias para poder contar con datos representativos de la sensibilidad a los antimicrobianos y evitar sesgos. En el caso de repeticiones donde se cuenten con datos de disco o CIM se debe conservar sólo el que se informará al médico y borrar el que no se considere.

SISTEMA PHOENIX: Ud debería probar los siguientes antimicrobianos dependiendo del esquema que haya elegido y del panel que utilice:

- ✓ **Esquema de máxima:**
 - Panel 406 (BGN SIST): AKN, ATM, CZA (10/4), IMR, Prueba de COL.
 - Panel 504 (COMBO): AKN, FOX, ATM, FOS, IMR, Prueba de COL.
 - Panel 501 (EMERGE): IMR, Prueba de COL.
 - ✓ **Esquema de mínima en cepas sensibles a carbapenemes:**
 - Panel 406 (BGN SIST): AKN.
 - Panel 504 (COMBO): AKN.
 - Panel 501 (EMERGE): nada extra.
 - ✓ **Esquema de mínima en cepas resistentes a carbapenemes:**
 - Panel 406 (BGN SIST): AKN, ATM, CZA (10/4), IMR, Prueba de COL.
 - Panel 504 (COMBO): AKN, ATM, FOS, IMR, Prueba de COL.
 - Panel 501 (EMERGE): IMR, Prueba de COL.
- ✓ En ETB productores de AmpC, si CRO y CAZ R o I: confirmar la presencia de BLEE o hiperproducción / derrepresión AmpC.
 - ✓ El Panel NMIC 406 no tiene detección de carbapenemasa, se sugiere utilizar el algoritmo elaborado por el LNR en caso de sospecha. (Figura 3).
 - ✓ Los paneles nuevos de Phoenix (NMIC/ID-504, y NMIC-501) poseen detección de carbapenemasas. Se sugiere utilizar el algoritmo elaborado por el LNR (Figura 13) para optimizar la clasificación de las carbapenemasas en clases de Ambler (A, B y D) con el panel NMIC-501 (**no detecta doble productores**).
 - ✓ En Phoenix, la concentración menor para amicacina es 8µg/ml, y con la modificación de los puntos de corte de amicacina en aislamientos con resultados de CIMes ≤8µg/ml no se podría definir si la CIM corresponde a la categoría sensible o intermedia. En estos casos recomendamos probar amicacina por el método de difusión con discos o algún otro método alternativo para discernir entre estas categorías. Los resultados de resistencia se



podrían informar sin necesidad de utilizar ningún método confirmatorio.

SISTEMA VITEK 2C: Ud debería probar los siguientes antimicrobianos dependiendo del esquema que haya elegido y la tarjeta que utilice:

- ✓ **Esquema de máxima:**
 - AST-421: CFZ, FOX, TMS, ATM, ERT, FOS, IMR, Prueba de COL.
 - AST-422: FOX, CZA, IMI, MER, ATM, IMR, Prueba de COL.
- ✓ **Esquema de mínima en cepas sensibles a carbapenemes:**
 - AST-421 (no IUBNC): ERT.
 - AST-421 (IUBNC): CFZ, TMS, FOS, ERT.
 - AST-422: IMI, MER.
- ✓ **Esquema de mínima en cepas resistentes a carbapenemes:**
 - AST-421: ATM, ERT, FOS, IMR, Prueba de COL.
 - AST 422: CZA, IMI, MER, ATM, IMR, Prueba de COL.
- ✓ En ETB no-Eco no-Kpn cambiar tipificación en forma temporaria a *K. pneumoniae* para acceder al resultado del test confirmatorio de BLEE.
- ✓ En el caso de productores de MBL, debido a la falta del pocillo de ATM, el pocillo de BLEE puede dar negativo en cepas MBL+BLEE por enmascaramiento.
- ✓ En las cepas con meropenem ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ confirmar el valor de CIM con otro método (dilución, E-test) para determinar su utilidad en el tratamiento combinado (CIM hasta 8 o 16 $\mu\text{g/ml}$).

AMBOS SISTEMAS:

- ✓ Si CTX/CRO, CAZ y FEP son ≤ 1 y BLEE + puede ser un falso positivo de BLEE: confirmar según punto 2.
- ✓ Si FEP R, CRO/CTX S y CAZ S confirmar presencia de cefepimasa.
- ✓ En ETB no productores de AmpC Si FOX I o R confirmar presencia de AmpC plasmídica según punto 3.
- ✓ Si **FOS o TGC I o R** confirmar el valor con discos: si da S o R 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 los valores de CIM por método automatizado y disco). **LO IMPORTANTE ES QUE FIGURE SOLO UN VALOR PARA CADA DROGA.**
- ✓ En 2019 CLSI cambió el punto de corte de CIP para ETB a $\leq 0,25$ $\mu\text{g/ml}$ y ≥ 1 $\mu\text{g/ml}$ por lo que los ambos equipos automatizados tienen el rango de CIMs adecuado para informar las tres categorías.
- ✓ **AMINOGLUCÓSIDOS 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 512 $\mu\text{g/ml}$ 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/sulfametoxazol (3)
5. Ciprofloxacina (3)(4)
6. Nitrofurantoína (2)(3)
7. **Fosfomicina 200µg (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. Cualquier deformación (efecto huevo) del halo de CXM o FIX debe confirmarse 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 ensayan drogas fuera del protocolo, se deben cargar los resultados de las mismas en la base de datos solo si se prueban sistemáticamente. 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, CFZ se interpreta únicamente con 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 (cefaclor, cefdinir, cefpodoxima, cefprozilo, cefuroxima, cefalexina y loracarbef)* cuando se utilizan como tratamiento de IUBNC exclusivamente". ($S \geq 15\text{mm}$)
2. "El aislamiento en estudio es resistente a las cefalosporinas orales (cefaclor, cefprozilo, cefalexina y loracarbef)* cuando se utilizan como tratamiento de IUBNC exclusivamente". ($R \leq 14\text{mm}$)

*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/RESISTENCIA A CFZ EN IUBNC, sino **SENSIBILIDAD O RESISTENCIA A LAS CEFALOSPORINAS ORALES UTILIZADAS EN SU HOSPITAL**.

NOTA 2: Si el aislamiento resulta resistente a CFZ, puede haber sensibilidad a cefaclor, cefuroxima y cefnidir por lo que no se deben incluir estas drogas en el reporte de resistencia. Si se van a utilizar se deberían probar individualmente e informar según como dan (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. En general el mismo fenómeno se observa para aislamientos de *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* y *Citrobacter koseri*.

Una excepción a esta regla son las cepas productoras de OXA-48-like (inclusive la OXA-163 en algunos casos pueden cursar con S a CFZ).

Los halos de CFZ entre 7 y 14mm, en *E. coli*, *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis* y *Citrobacter koseri*, si bien pueden incluir algunos hiperproductores de BLEA, recomendamos que **todos los aislamientos no sensibles a CFZ ($\leq 14\text{mm}$)** sean estudiados para la búsqueda de BLEE o AmpC plasmídico utilizando discos de CTX-AMC-CAZ y FOX-APB-CTX o para la búsqueda de carbapenemasas siguiendo el algoritmo de la figura 3.

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



IMPORTANTE: En IUBNC COMPLETAR 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 resultado.



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. morgani*, *Providencia spp.* y *Serratia spp.* presentan resistencia natural a los nitrofuranos y colistín.



3. NOTA INTERPRETACIÓN INTERMEDIO

Debido a la alta concentración que estos antimicrobianos 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 $\mu\text{g/ml}$ o halos \geq 26mm. Se elimina el disco de ác. 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 FOS dentro de las drogas de primera línea para el tratamiento de las IUBNC. En este marco a partir de 2020 **incluimos FOS en el antibiograma de la IUBNC para poder contar con datos de vigilancia nacional para este antimicrobiano** (ver lectura del disco de FOS en la sección anterior punto 5. Nota fosfomicina). CLSI definió puntos de corte urinarios para el disco de FOS de 200 μg 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 200 μg de uso sistémico recomendados por el LNR**. En caso de poseer **discos de 50 μg 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. POLIPÉPTIDOS

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 ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ o método de screening positivo, sin carbapenemasa adquirida asociada.

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:

- ✓ Se recomienda probar Panel urinario 407 + disco de FOS.
- ✓ Si se usa el Panel 406, sin rango extendido urinario (CFZ: 2-8 $\mu\text{g/ml}$), si CFZ > 8 $\mu\text{g/ml}$ **PROBAR DISCO DE CFZ** y borrar el valor de CIM (DEJAR SOLO EL VALOR DE DISCO) + disco de NIT.

SISTEMA VITEK 2C:

- ✓ Se recomienda probar la tarjeta urinaria N422 que contiene todos los antimicrobianos del protocolo.



II. ENTEROPATÓGENOS

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)
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 BLEE 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/AmpC. De obtenerse un resultado positivo agregar "+" (o "-" en el caso de ser negativo) en el casillero de BLEE. Para evaluar la sospecha de BLEE 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: Completar siempre el campo de BLEE. Si CPD fuera sensible completar como "-". Si CPD fuera resistente consignar el resultado de la confirmación de la BLEE con un "+" o "-" según sea el caso.



Derivar al LNR:

Salmonella spp. y *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. Debido al aumento en la resistencia a fluorquinolonas y cefalosporinas de tercera generación. Debido a que *Salmonella* en general presenta inhibición parcial para esta droga, pueden presentarse zonas de inhibición no definidas o doble halo, por lo tanto, para los métodos 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* Typhi y azitromicina pueden extrapolarse a todas las *Salmonellas* spp. (según datos del LNR).

***Shigella* spp.:** En 2021, CLSI publicó puntos de corte clínicos para *Shigella* spp. sumándolos a los ya establecidos en 2015 para *Salmonella* Typhi.

Derivar al LNR:

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

3. POLIPÉPTIDOS

Se propone en forma OPTATIVA la inclusión de COLISTIN en la placa de aislamientos de coprocultivos como screening de mecanismos emergentes de resistencia a colistín (ej: mcr-1).

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 para *Salmonella* y *Shigella*, usaremos los puntos de corte sistémicos recomendados por el LNR, ver Tabla 1. Si bien contamos con puntos de corte para discos de 50µg y 200µg, recomendamos para futuras compras utilizar los discos de 200µg 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:

- ✓ Se recomienda utilizar el panel sistémico NMIC-406 + disco AZI, y probar NIT en *Shigella*.
- ✓ Si se utiliza el panel urinario NMIC-407 probar FOS + disco AZI.
- ✓ *Salmonella* y ciprofloxacina: los paneles NMIC-406 y 407 carecen de la concentración 0,06 µg/ml de ciprofloxacina (rango CIP 0,125-2 µg/ml). Si CIM de CIP ≤ 0,12 µg/ml, probar por difusión para poder categorizarla correctamente (punto de corte CIP para *Salmonella* S ≤ 0.06 – R ≥ 1 µg/ml).
- ✓ Si se utiliza el panel NMIC-501 (Emerge) probar disco AZI (rango ciprofloxacina 0,06- 2 µg/ml, no será necesario probar el disco de CIP).

SISTEMA VITEK 2C:

- ✓ Se recomienda probar la tarjeta urinaria N422 + disco AZI.

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. Gentamicina |
| 3. Cefepima | 4. Ciprofloxacina |
| 5. Imipenem | 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/Sulfametoxazol
 4. Cloranfenicol
 5. Nitrofuranos (1)
 6. Eritromicina (2)
 7. Norfloxacin (1)
-

(1) Utilizar puntos de corte de ETB.

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



III. OTROS BACILOS GRAM NEGATIVOS

III.a. *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiograma de mínima (dos placas, ver figura 4)

1. Ceftazidima (5)	7. Piperacilina/tazobactam (10)
2. Cefepime	8. Aztreonam (solo para MBL)
3. Imipenem (2)	9. Imipenem/relebactam (8)
4. Ciprofloxacina	10. Ceftazidima/ac. Clavulánico (6)
5. Meropenem (2)	11. Ceftolozano/tazobactam (8)
6. Amicacina	12. Cefazidima/avibactam 10/4 µg (8)

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

En 2021 se elimina el disco de EDTA de **la placa inicial** debido a la baja prevalencia de MBL en *P. aeruginosa* a nivel nacional. Aquellos laboratorios que presenten mayor prevalencia de estos mecanismos pueden seguir probándolo. No se modifica el uso de EDTA en una instancia confirmatoria.

Al momento de la confección de este documento, aún no se comercializa en nuestro país el disco de **IMIPENEM/RELEBACTAM (IMR)** por lo que se incorporará al protocolo al momento que esté disponible.

III.b. *Acinetobacter* spp.

Antibiograma de mínima (dos placas, ver figura 5)

1. Gentamicina	8. Piperacilina/tazobactam
2. Ceftazidima (5)	9. Ampicilina/sulbactam (3)
3. Cefepime	10. Minociclina (4)
4. Imipenem (2)	11. Trimetoprima-sulfametoxazol
5. Ciprofloxacina	12. EDTA (2)
6. Meropenem (2)	13. Ceftazidima/ác. clavulánico(6) OPCIONAL*
7. Amicacina	14. Tigeciclina (7)

* Debido a la alta prevalencia de carbapenemasa tipo OXA en el país, la búsqueda de BLEE en *Acinetobacter* spp debería estar limitada únicamente a los aislados imipenem sensibles.

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

Ver esquema de colocación de los discos para *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. en figura 8 y 9.

1. POLIPÉPTIDOS

En infecciones por cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* o *Acinetobacter* spp. los laboratorios **deben evaluar la actividad de colistín por algún método de referencia/alternativo recomendado por el Laboratorio de Referencia.** Ver Sección 1. Punto 10.



Aclaración: El LNR recomienda utilizar los puntos de corte de EUCAST 2023:

- *Pseudomonas spp.*: Sensible $\leq 4\mu\text{g/ml}$, Resistente $\geq 8\mu\text{g/ml}$.
- *Acinetobacter spp.*: Sensible $\leq 2\mu\text{g/ml}$, Resistente $\geq 4\mu\text{g/ml}$.

Respecto al cambio del punto de corte para *Pseudomonas spp.* desde el LNR queremos destacar que son muy pocos los aislamientos con CIMes de $4\mu\text{g/ml}$ y la resistencia a polipéptidos en este género bacteriano es infrecuente (2,1% según los datos de la Red WHONET-Argentina año 2022). En caso de obtener resultados de Resistente, éste debe ser confirmado por una metodología alternativa a la utilizada en primera instancia, idealmente un método de dilución en caldo, o derivar el aislamiento a un centro de referencia.

Para aquellos laboratorios que evalúen la sensibilidad a polipéptidos por medio del método COL-TEST o Agar-Spot de Colistín, donde la concentración de colistín es $3\mu\text{g/ml}$, en el caso de obtener crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*, deberían confirmar el aislamiento con un método de dilución para determinar el valor real de CIM y así poder categorizar al aislamiento como sensible o resistente.

Derivar al LNR:

- *Pseudomonas aeruginosa* con CIM a colistin $\geq 8 \mu\text{g/mL}$
- *Acinetobacter spp.* con CIM a colistin $\geq 4 \mu\text{g/mL}$

2. 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.

En 2021 se removió el disco de EDTA de la placa inicial. En el caso de que se sospeche carbapenemasa a partir de los datos del antibiograma inicial, realizar la sinergia con los carbapenemes calculando la distancia adecuada según lo visto en la sección 1, punto 5.2.1.

En *Acinetobacter spp.*, debido a la gran cantidad de aislamientos extremadamente- resistentes, es muy difícil diferenciar la R a carbapenemes causada por la hiper-producción de carbapenemasas del tipo OXA (mecanismo más frecuente) de la resistencia debido a metalcarbapenemasas del tipo NDM. Este último mecanismo, por 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)

2.1. REGISTRO EN WHONET DE CEPAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS

P. aeruginosa o *Acinetobacter spp.* con sospecha de carbapenemasa se deben confirmar según los algoritmos de sospecha de carbapenemasas vigentes. Ver Figuras 10 y 11. (<http://antimicrobianos.com.ar/category/algoritmos-manuales-protocolos/>).



En todas las CEPAS de *P. aeruginosa* DTR¹ y *Acinetobacter spp.* resistentes a los carbapenemes se debe cargar los campos:



- **Sensibilidad a COLISTIN**
- **Mecanismo de resistencia a carbapenemes**

¹ *P. aeruginosa* difíciles de tratar son aquellas resistentes a todas las siguientes drogas: ATM, CAZ FEP, PTZ, IMI, MER y CIP.

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

- **Tipo KPC:** incluye *P. aeruginosa* no inhibibles por EDTA con:
 - halo de IMI y MER y ATM de 6mm o
 - CPO+ indicativo de clase A + **MER>32ug/ml** (ver figura 14) o
 - **CT I o R + CZA S (+IMR S) y/o**
 - THT 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

Aún no se ha detectado la producción de KPC en *Acinetobacter* en Argentina, si se detecta este mecanismo, corroborar la identificación (ver figura 11) y derivar al LNR para su confirmación.

- **Tipo MBL:** incluye *P. aeruginosa*
 - inhibibles por EDTA/dipicolínico o
 - CPO+ indicativo de clase B+CZA R o Neg+CZA R en Pae (ver figura 14) o
 - **CT alto nivel de R + CZA R + inhibición por EDTA/dipicolínico y/o**
 - delta mCIM-eCIM positivo (**solo para Pae**) y/o
 - PCR/ inmunocromatografía positiva para MBL.
- **Tipo MBL:** incluye *Acinetobacter spp.*
 - inhibibles por EDTA/dipicolínico o
 - CPO+ indicativo de clase B en Aba (ver figura 15) y/o
 - PCR/ inmunocromatografía positiva para MBL.
- **Tipo OXA:** NO informar las OXA propias y adquiridas de *Acinetobacter* (CPO+ indicativo de clase D).
- **Carbapenemasa:** incluye *P. aeruginosa* con método colorimétrico positivo / THT positivo con inhibidores negativos o sin resultado o con alto nivel de R a C/T, BLEE negativa y sin pruebas positivas de actividad de carbapenemasa
- **Carbapenemasa:** incluye o *Acinetobacter spp.* con método colorimétrico positivo (leído dentro de la primera hora), con inhibidores negativos o sin resultado
- **Otras Combinaciones de carbapenemasas:** incluye *P. aeruginosa* o *Acinetobacter spp.* en los que por PCR o inmunocromatografía se haya determinado la presencia de más de una carbapenemasa no NDM+KPC.
- **No Carbapenemasa:** incluye *P. aeruginosa* con sinergia con EDTA negativa y THT/método colorimétrico/mCIM negativos y halos de C/T de sensible o moderada R (>= 10 mm). Para *Acinetobacter spp.* no usaremos esta categoría.

Aclaración: para *Acinetobacter* siempre se debe informar el resultado de métodos



colorimétricos que resulta 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*. Se sugiere confirmar un resultado positivo dentro de la primera hora con un disco de EDTA.

El mCIM y el eCIM no fueron estandarizados para *Acinetobacter*.

3. SULBACTAM

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

En caso de que el paciente requiera del uso combinado de CZA SUL, se sugiere evaluar la sinergia in vitro mediante la colocación en L de 4 discos de CZA y 4 de AMS.

4. MINOCICLINA

Los aislamientos multirresistentes de *Acinetobacter* spp. suelen presentar sensibilidad a minociclina 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 imipenem como por ej. GES)

6. CEFTAZIDIMA /AC. CLAVULÁNICO

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 ($S \leq 1 \mu\text{g/ml}$ $R \geq 2 \mu\text{g/ml}$) 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 (utilizando doble



dosis).

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

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

Ceftolozano/tazobactam puede infundirse en forma continua, lo que permite alcanzar concentraciones séricas de ceftolozano (pero no de tazobactam) de hasta 16-32 µg/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), cefalosporinas 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 metalcarbapenemasas y BLEE tipo PER. La actividad es variable en aislamientos hiperproductores de mecanismos de eflujo.

<i>P. aeruginosa</i> CZA	Disco (mm)10/4 µg				CIM (µg/ml)	
EUCAST + ATU*	10/4 µg	S ≥ 17	ATU*: 15-16 requiere CIM	R ≤ 14	S ≤ 8/4	R ≥ 16/4

* 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 10/4µg 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. **Los 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).

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

8.3. IMIPENEM / RELEBACTAM (IMR)

Relebactam es un potente inhibidor de betalactamasas (diazabiciclooctano –DBO–), no-betalactámico. Posee actividad inhibitoria frente a BLEE, AmpC, carbapenemasas de clase A (KPC), OXA-163 (pero no OXA-48) y potencia la actividad del imipenem frente a *P. aeruginosa*. No inhibe carbapenemasas de clase B (MBL).

La combinación imipenem-cilastatina/relebactam es una buena opción para el tratamiento de infección por *Pseudomonas* resistentes a los carbapenemes debido a hiperproducción de AmpC y déficit de *oprD*, pero no presenta actividad frente a productores de MBL ni frente a *Acinetobacter* spp.

La droga fue aprobada por la FDA en 2019 para su uso en infección urinaria e infección abdominal complicadas y en 2020 se aprobó para neumonías asociadas a ventilador y neumonías intrahospitalarias.

En CLSI se dispone de puntos de corte para el método de difusión con discos (10/25µg) y de CIM para Enterobacterales (excepto *Morganella* spp, *Proteus* spp. y *Providencia* spp.) y *Pseudomonas* spp. Por el momento los discos comerciales de IMR no se encuentran disponibles. Se recomienda que cuando estos estén disponibles en el mercado, se ensayen y registren sus resultados en WHONET.



9. AMINOGLUCÓSIDOS

✓ P. aeruginosa:

En la edición 2023 de CLSI eliminó el punto de corte (disco y CIM) para gentamicina y se modificaron los puntos de corte para tobramicina. Los puntos de corte de amicacina no sufrieron modificaciones, pero CLSI aclara que esta droga debe usarse sólo para el tratamiento de Infección urinaria. Por este motivo, se eliminó el disco de gentamicina del protocolo para *P. aeruginosa*.

En infección urinaria: probar e informar amicacina, según las recomendaciones de CLSI.

En otras infecciones (no urinarias): utilizar el punto de corte CLSI, pero sugerimos seguir las recomendaciones de EUCAST e informar amicacina para infecciones sistémicas únicamente en tratamiento combinado.

✓ Otros no-Enterobacteriales y Acinetobacter:

El CLSI no se expidió respecto a los otros no-Enterobacteriales y *Acinetobacter* spp., por lo que también sugerimos utilizar los puntos de corte de CLSI y seguir las recomendaciones de EUCAST de informar aminoglucósidos para tratamiento combinado, excepto en aislamientos del tracto urinario donde se podrían utilizar en monoterapia.

10. PIPERACILINA/TAZOBACTAM

Durante el año 2023, CLSI cambió los puntos de corte de PTZ (CIM y disco) en *P. aeruginosa*. Los mismos están basados en una dosificación de 4,5g administrados cada 6hs en 30 minutos o 3hs. El punto de corte de "intermedio" para esta droga está sólo para proveer una zona buffer para evitar que pequeños factores técnicos no controlados causen discrepancias importantes en las interpretaciones.

CLSI 2023	<i>P. aeruginosa</i>					
	Difusión (mm)			CIM (µg/ml)		
Piperacilina/ tazobactam	S	SDD	R	S	SDD	R
	≥22	18-21 ^	≤17	≤16/4	32/4 ^	≥64/4

11. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

SISTEMA PHOENIX: Ud debería probar los siguientes antimicrobianos dependiendo del esquema que haya elegido y del panel que utilice:

Para *Pseudomonas aeruginosa*:

✓ Esquema de máxima:

- Panel 406 (BGN SIST): CZA, C/T, IMR, Prueba de COL.
- Panel 504 (COMBO): C/T, IMR, Prueba de COL.
- Panel 501 (EMERGE): IMR, Prueba de COL.

✓ Esquema de mínima en cepas sensibles a carbapenemes:

Nada extra.

✓ Esquema de mínima en cepas resistentes a carbapenemes:

- Panel 406 (BGN SIST): CZA, C/T, IMR, Prueba de COL.
- Panel 504 (COMBO): C/T, IMR, Prueba de COL.
- Panel 501 (EMERGE): IMR, Prueba de COL.



Para *Acinetobacter* spp, probar siempre:

- Panel 406: MIN, Prueba de COL.
- Panel 504: Prueba de COL.
- Panel 501: Prueba de COL.

SISTEMA VITEK 2C: Ud debería probar los siguientes antimicrobianos dependiendo del esquema que haya elegido y la tarjeta que utilice:

- Para *Pseudomonas aeruginosa*:

- ✓ **Esquema de máxima:**
 - AST-421: IMR, Prueba de COL.
- ✓ **Esquema de mínima en cepas sensibles a carbapenemes:**
 - AST-421: No probar nada extra.
- ✓ **Esquema de mínima en cepas resistentes a carbapenemes:**
 - AST-421: IMR, Prueba de COL.

- Para *Acinetobacter* spp, probar siempre:

- N421: MIN y Prueba de COL.

AMBOS SISTEMAS:

- ✓ En *P. aeruginosa*: si **COL R** confirmar por algún método recomendado por el LNR, son muy infrecuentes y generalmente se trata de contaminaciones.
- ✓ En *Acinetobacter* spp: confirmar los resultados R o I a TIGE (ídem que para ETB).
- ✓ Para ambos gérmenes **Confirmar los resultados de S a COL** (ídem que para ETB).

III.c. *Aeromonas* spp.

Antibiograma (dos placas)

1. Imipenem (1)	7. Amicacina
2. EDTA	8. Tetraciclina
3. Meropenem	9. Cefotaxima
4. Ciprofloxacina (2)	10. Amoxicilina / ác. Clavulánico
5. Trimetoprima-sulfametoxazol (2)	11. Ceftazidima
6. Gentamicina	12. 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. Cef tazidima
2. Meropenem
3. Minociclina
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
2. Levofloxacina*
3. Trimetoprima-sulfametoxazol

* Levofloxacina no debe ser utilizada en el tratamiento como monoterapia (CLSI 2023)
La predifusión rápida de ATM AVI no ha sido estandarizada para este patógeno.



IV. COCOS GRAM POSITIVOS

IV.a. *Staphylococcus* spp.

Antibiograma de mínima (excepto IU)

2 placas

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

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 2024 se elimina el disco de ceftobiprole de la placa de *Staphylococcus*.

1. GLICOPÉPTIDOS

En vista de las fallas de tratamiento documentadas por cepas que presentan CIMs de 2µg/ml 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* coagulasa negativa. (especialmente *S. haemolyticus*).

Derivar al LNR:

***Staphylococcus aureus* con CIMs de VAN ≥4µg/ml o *Staphylococcus* spp. distintos de *S. aureus* con CIMs de VAN ≥32 µg/ml. Confirmar la identificación antes de derivar al LNR.**

En caso de infecciones severas por MRSA se debería realizar la CIM a VAN para guiar el



tratamiento. De obtener un valor de CIM=2 µg/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" UN VALOR DE CIM A VANCOMICINA ≥ 2 µg/ml ES PREDICTOR DE POBRE RESPUESTA A LA TERAPIA CON VANCOMICINA.

PREDIFUSIÓN: 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 y heteroVISA (hVISA) 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

Insert for Kit for Detection of hGISA, GISA, VRE and Daptomycin susceptibility. DBV0036D 26-02-2016. ROSCO DIAGNOSTICA

2. MACRÓLIDOS Y LINCOSAMINAS

Ubicar el disco de eritromicina de **15 a 26 mm** (de borde a borde) del disco de clindamicina. 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 resultado dissociado 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/ OXACILINA

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

La meticilino resistencia en *Staphylococcus* spp se determinará únicamente a través del ensayo del disco de cefoxitina excepto en *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* en los que deberíamos basarnos en el disco de oxacilina para informar meticilino 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. En 2021 se modificaron los puntos de corte de CIM para oxacilina de todos los estafilococos, a excepción de *S. aureus* y *S. lugdunensis*. Esta modificación permite disminuir la cantidad de errores mayores por lo que mejora la correlación con la detección del gen *mecA*, excepto para algunas especies como *S. haemolyticus* y *S. hominis*.

	Grupo <i>S. aureus</i> (incluye <i>S. lugdunensis</i>)		Otros <i>Staphylococcus</i> spp. (excepto <i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. epidermidis</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 (µg/ml)	Disco (mm)	CIM (µg/ml)	Disco (mm)	CIM (µg/ml)	Disco (mm)	CIM (µg/ml)
OXA	--	S ≤ 2 R ≥ 4	--	S ≤ 0.5 R ≥ 1	S ≥ 18 R ≤ 17	S ≤ 0.5 R ≥ 1	S ≥ 18 R ≤ 17	S ≤ 0.5 R ≥ 1
FOX	S ≥ 22 R ≤ 21	S ≤ 4 R ≥ 8	S ≥ 25 R ≤ 24	--	S ≥ 25 R ≤ 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 en *S. aureus*, se debe informar metiR y derivar al LNR para confirmar.

Si bien las infecciones por *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* reportados en nuestra Red son muy bajas 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:
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.

4. LINEZOLID

Aún es muy inusual la resistencia a linezolid en *Staphylococcus* spp. Todo aislamiento con halo \leq 20 mm a esta droga se debe **derivar al LNR** para su confirmación y caracterización. Recordar realizar la lectura de halos de inhibición a las 24 hs con luz transmitida.

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

Ceftarolina (CPT) es un cefems de amplio espectro de uso parenteral. Se considera una cefalosporina 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 a β -lactámicos en estos gérmenes. También son activas frente a *S. pneumoniae* con resistencia a penicilina, SCN-MR, *Haemophilus* B-lasa (+), *Moraxella* B-lactamasa (+), *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 partes blandas complicadas y neumonía de la comunidad.



IMPORTANTE: Tener en cuenta que se han reportado aislamientos resistentes a CPT en SAMR. Cualquier aislamiento de *S. aureus* con halos de $CPT \leq 19$ mm (o $CIM \geq 8$ $\mu\text{g/ml}$) debe confirmarse y de mantenerse los resultados remitir al LNR para su confirmación.



9. SISTEMAS AUTOMATIZADOS

Vitek 2C:

- ✓ P653: probar TIG y CPT.
- ✓ **Chequear por disco los aislamientos ERI I, CLIN S (pueden llegar a dar S ERI).**

Phoenix:

- ✓ **SCN chequear los resultados de Metecilino R con el disco de FOX en las siguientes situaciones:**

Especie	CIM OXA (µg/ml)	CIM FOX (µg/ml)
<i>S. epidermidis</i> , <i>S. hominis</i> y <i>S. haemolyticus</i>	≤0,25	≥8
Resto de los SCN	≤0,25	≥8
	1-2	≤4

AMBOS SISTEMAS:

- ✓ 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.
- ✓ Confirmar la resistencia de baja frecuencia a: LNZ, DAP, CPT y VAN.
- ✓ Desde 2019, en el LNR observamos un aumento en los aislamientos ERI I CLI S con los métodos automatizados, pero no se observa la misma tendencia en la vigilancia por método de difusión. Para documentar este hallazgo proponemos que los que trabajen con sistemas automatizados prueben, como indica el protocolo, el disco de ERI en los aislamientos ERI I CLI S y consignen el valor del disco y de la CIM en la base de datos para poder ver cuál es la correlación entre las dos metodologías.

Derivar al LNR:

***Staphylococcus* spp. 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



Enterococcus spp en IU

Antibiograma mínimo para IU 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).
-

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

Se elimina la prueba del nitrocefín y el disco de ampicilina/sulbactam como screening de presencia de β -lactamasa debido a la baja prevalencia de este mecanismo en nuestro medio.

1. GLICOPÉPTIDOS

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 a nivel de especie, 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.

En el caso que se obtenga un valor de resistencia a daptomicina con los métodos Vitek2C y Phoenix y esta droga vaya a ser utilizada como terapia, se sugiere confirmar la resistencia por métodos epsilométricos, ya que con estos métodos automatizados se suelen obtener resultados de falsa resistencia (errores mayores).

Vitek 2C:

- ✓ PROBAR TIG y DAP (tira de gradiente) en VRE. En NO-VRE: nada extra.
- ✓ El AES no interpreta el valor de CIM de daptomicina para *E. faecium*. En este caso no se puede cambiar la interpretación a *E. faecalis* para obtener el resultado porque la correlación no es buena con los puntos de corte CLSI 2020.

Phoenix:

- ✓ En *E. faecium* VRE cambiar la tipificación a *E. faecalis* para ver la CIM de TIG, 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:

- R a DAP confirmada por métodos epsilométricos.
- I o R a linezolid/tigeciclina.
- *Enterococcus* spp. sospechoso de B-lactamasa +.

IV.c. *Streptococcus pneumoniae*

Antibiograma de mínima (una placa)	Antibiograma completo (dos placas)
1. Oxacilina	1. Oxacilina
2. Eritromicina (1)	2. Eritromicina (1)
3. Clindamicina (1)	3. Clindamicina (1)
4. Levofloxacina (2)	4. Levofloxacina (2)
5. Trimetoprima/sulfametoxazol	5. Trimetoprima/sulfametoxazol
	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 $\leq 25\text{mm}$ (o CIM $\geq 1\mu\text{g/ml}$) de ceftarolina debe ser remitido al LNR para su confirmación.

1. MACRÓLIDOS 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 (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 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" (achatación 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. GLICOPÉPTIDOS

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 2C:

- ✓ 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 \geq 30mm; R \leq 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 (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 WHONET ingresar el halo de CLI sin tener en cuenta el achatamiento).

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.
- ✓ Se puede ensayar *S. agalactiae* con la tarjeta AST-P653 pero contiene test de inducción solo para *Staphylococcus*. Si cambiamos temporariamente la identificación a *Staphylococcus* podemos ver el resultado del test de inducción.

Phoenix:

- ✓ Si ERI=I o R realizar D-test (SMIC-11 no tiene test de inducción).



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 no sensible 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 $1/19 \mu\text{g/ml}$ 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= CIM $16/304 = 16$ 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.

*Los dato de la **edad, sexo, infección intrahospitalaria, tipo de muestra, tipo de localización y BLEE** son indicadores de calidad de las bases por lo que se deben extremar los esfuerzos para conseguir esa información.

*Es fundamental el llenado de los campos de **Mec R Carbapenemes y Sensibilidad a Colistín** en **TODOS LOS BGNs CON SOSPECHA DE CARBAPENEMASA** (al menos algún carbapenem



afectado o alarma de OXA-48like en Tribu Proteeae 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. (EXCEPCIÓN: durante 2023 - 2024 para las confirmaciones de las CIMs I y R de ERI en *S. aureus* mantener los dos valores (CIM y disco))**

*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 PEDIÁTRICO 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. A continuación, se listan las cepas de referencia utilizadas para el control de calidad de las pruebas de sensibilidad, con sus características y los procesos que evalúa cada una.

Cepa	Factores que evalúa: interpretación
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<ul style="list-style-type: none"> - 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
<i>E. coli</i> ATCC 25922	<ul style="list-style-type: none"> - 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 (<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853 es la ideal para esto pero se puede observar también con <i>E. coli</i> 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. (<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853 es la ideal para esto pero se puede observar también con <i>E. coli</i> ATCC 25922)
<i>E. coli</i> ATCC 35218	<ul style="list-style-type: none"> - 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.
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	<ul style="list-style-type: none"> - Cepa productora de β-lactamasa de espectro extendido (SHV-18). Control positivo para el control de discos de cefotaxima/clavulánico (30/10µg) y ceftazidima/clavulánico (30/10µg) - Cepa indicada para controlar discos y tiras de gradiente de ceftazidima/avibactam (carga del disco recomendada 10/4µg, según EUCAST) y ceftolozano/ tazobactam.



<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<ul style="list-style-type: none">- 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 <i>E. coli</i> ATCC 25922 para los aminoglucósidos y tetraciclinas cuando varía el pH del MH).
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<ul style="list-style-type: none">- 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 µg y estreptomina 300 µg.
<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 10211	<ul style="list-style-type: none">- Cepa nutricionalmente exigente, indicada para el control de calidad del medio de cultivo HTM.
<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>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.
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Cepa 1, Enc 30 PCCN	<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



E. coli
Cepa N°1
Enc 52 PCCN

- Cepa productora de MBL VIM-1, indicada para evaluar la concentración de Zn⁺⁺ del MH. Si el medio tiene concentración de Zn⁺⁺ baja 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.

K. pneumoniae
ATCC BAA 1705
Cepa N°3. Enc 57
PCCNAC 2020

- Cepa productora de KPC.
- Cepa indicada para controlar discos de ceftazidima/avibactam (carga del disco recomendada 10/4µg, según EUCAST). Rango PCCNAC. Malbrán: 15-21 mm. Target: 18mm)
- Control positivo de MHT.

- cepa con resistencia plasmídica a polimixinas mediada por el gen mcr-1.
- Cepa indicada para control de las distintas metodologías de evaluación de sensibilidad a colistín.

Resultados de sensibilidad a colistín en la cepa N° 3 con distintas metodologías realizadas en el LNR.

E. coli
Cepa N°3,
ENC 54 PCCNAC 2017

Método	Clase de Método	Resultado
Macrodilución en caldo	Referencia	8 µg/ml
Dilución en Agar	Referencia	8 µg/ml
SENSITITRE®	Aceptado	>4 µg/ml
WALKAWAY MICROSCAN®	Aceptado	≥8 µg/ml
Elución Discos COL	Aceptado	>4
COL-Agar spot	Aceptado	POSITIVO
COLTEST®	Aceptado	POSITIVO
Predifusión con Tabletas COL	Aceptado	Sin Halo



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.

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.

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				



	ECO 25922	SAU 25923	PAE 27853	ECO 35218	EFA 29212
Estreptomicina 300 µg					X
Fosfomicina 50 µg	X (20-40mm)				
Fosfomicina 200µg	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 5µg*		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 30µg sólo se dispone de rangos de las Normas Francesas:
S.aureus ATCC 25923: 34-39mm.

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

	Carga	Sensible	Intermedio	ATU ¹⁰	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		≤15
Ac. Fusídico ³	10 µg	≥ 24			≤23
Tigeciclina ^{4*}	15 µg	≥ 18			≤ 17
Tigeciclina^{5**}	15 µg	≥ 21	CIM		≤ 16
Tigeciclina ⁶	15 µg	≥ 19			
Tigeciclina ^{7*}	CIM	≤ 0.5			≥ 1***
Tigeciclina^{8**}	CIM	≤ 1			≥ 2
Mupirocina	200 µg	> 06			No halo
Mupirocina	CIM				≥ 512 µg/ml
Ceftobiprole ³	5µg	≥ 17		16-17	≤16
Rifampicina ⁹	30µg	≥19mm			<14mm
Cefalexina ³	30µg	≥ 14			≤13
Cefalexina³	CIM	≤ 16			≥ 32

² Según Pasteran y cols. JIDC, 2012

³ Punto de corte según EUCAST

⁴ Punto de corte según EUCAST para *E. coli* para Dosis Estándar

⁵ Puntos de corte para ETB (no *E. coli*) y *Acinetobacter* spp. (Altas Dosis**). No se dispone de puntos de corte para otros regímenes de dosificación): provistos por el LNR (Pasteran y cols. *J Infect Dev Ctries* 2012; 6(5):452-456.) En cepas con halos ≥21mm podrá asegurarse CIMes ≤ 1.0 µg/ 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.

⁶ Punto de corte válido para *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp. sugerido por FDA.

⁷ Punto de corte según EUCAST para *E. coli* y *C. Koseri* (Dosis Estándar*). *****Aislamientos con CIMs de hasta 1µg/ml se consideran Sensibles si se utilizan Altas Dosis.**

⁸ Punto de corte para ETB (no *E. coli* ni *C. Koseri*) y *Acinetobacter* spp. (Altas Dosis**). No se dispone de puntos de corte para otros regímenes de dosificación): provistos por el LNR basados en EUCAST 2018.

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

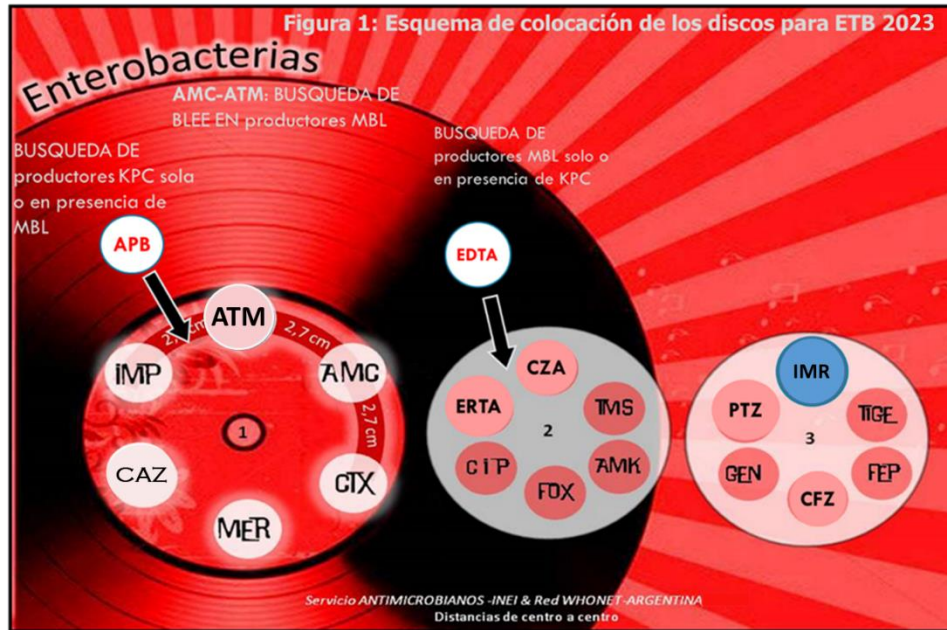
**Tigeciclina: Altas dosis: DC 200mg + DM de 100mg/12hs

⁹ Punto de corte según normas de la Sociedad Francesa de Microbiología válido para *Acinetobacter* spp., *S. maltophilia* y *P. aeruginosa*.

¹⁰ATU (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 Enterobacteriales



La colocación estratégica de los discos en el antibiograma permite detectar mecanismos de resistencia específicos por lo que debe respetarse la ubicación y la distancia sugeridas:

- ATM – AMC – CTX: a una distancia de 2,7cm de centro a centro de cada disco. Pone en evidencia la producción de BLEE.
- IMI – CAZ: a una distancia de 2cm de centro a centro. Pone en evidencia la producción de OXA-163 (≈40% de los casos cursan con sinergia IMP-CAZ) o eventualmente BLEEs derivadas de GES, PER u otras.

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 ERTA y CZA, mientras que el de APB a 2 cm de IMP y ATM hacia el centro o periferia de la placa.

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

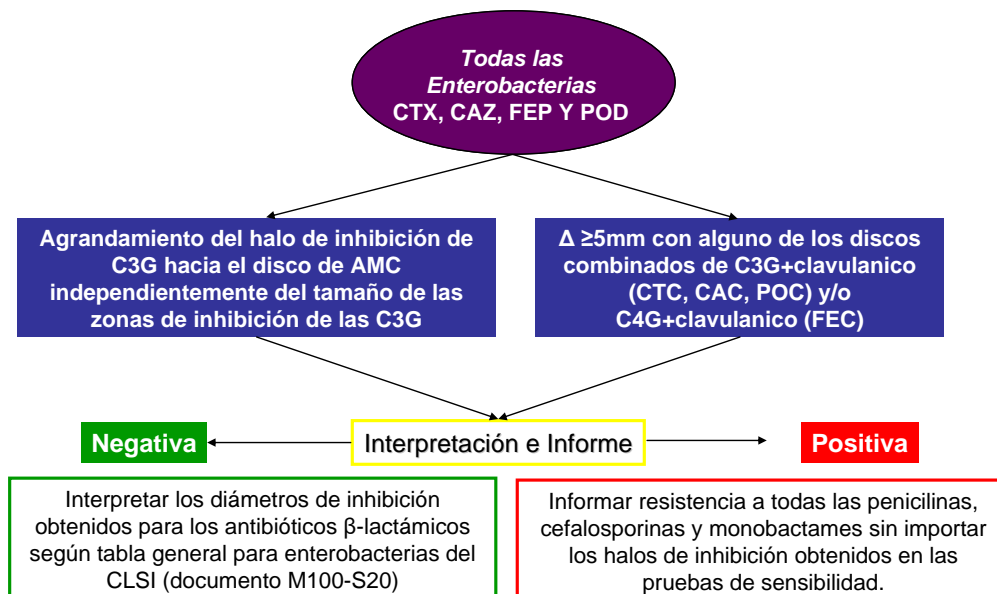


Figura 3. Detección de carbapenemasas en Enterobacteriales



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

Detección de CPEs

	KPC	MBL	NDM	OXA	OXA	NON-CPE	
	SME/IMI		PROTEAE	48	163	CTXM	AmpC
						+porinas	+porinas
COLOR BCT, CNPd, BCDisk, Rapidec	++	++	++/-	++/-	--	--	--
THT	++	++	++ <small>Protease 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, I, S	TAZ	CLOX
CPO BD detect	A IMI>1 CRO>4	B (Pre) o B+CZA® (non-Pre)		D	D N+FEP≥16+ PTZ>64+ETP≥0.5	ESBL P+ESBL N+ETP<0.5	
K-SeT (quintuple)	KPC	NDM, VIM, IMP		OXA 48+	OXA 163+		
		Si negativo derivar al LNR (PCR)			Exceso de inóculo: 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. Predifusión rápida Aztreonam – Amoxicilina/clavulánico

AZTREONAM-CLAVULANICO

PREDIFUSION RAPIDA

(Preliminar - Febrero 2021)

ALCANCE DE LA PRUEBA

Dirigida a Enterobacterales productores de:
• MBL ATM^R
(R a ATM por BLEE)

- 1) Hisope una placa de MHA con una suspensión de la cepa en estudio ajustada al 0,5 McFarland
- 2) Coloque un disco de amoxicilina clavulanico (AMC 20/10 ug).
Deje reposar a T° ambiente por 15 minutos
(predifusión rápida)
- 3) Retire el disco de AMC de manera aséptica,
y coloque en su lugar un disco de Aztreonam (ATM 30ug)
- 4) Incubar a 35 - 37° C por 16-18 hs.
Medir el halo de inhibición.

5) INTERPRETACIÓN y REPORTE
Se define un punto de corte epidemiológico (ECOFF) para ATM-CLA (CIM $\leq 1 \mu\text{g/ml}$) y su halo equivalente mediante la predifusión rápida que permite diferenciar las poblaciones salvajes o wild-type de las no-salvajes. El ECOFF es independiente de las distintas dosificaciones que pudieran emplearse.
Las colonias dentro de la zona de inhibición deberán ser consideradas en la lectura (hetero-resistencia)
**Halo $\geq 22 \text{ mm}$, equivalente a CIM $\leq 1.0 \mu\text{g/ml}$:
Reportar como cepa SALVAJE, alta probabilidad de bactericidia con ATM-CLA**
**Halo $\leq 21 \text{ mm}^*$, equivalente a CIM $> 1.0 \mu\text{g/ml}$:
Reportar como cepa NO-SALVAJE o sinergia negativa para ATM-CLA**
* Halos de 20-21 mm resultan equivalente a CIMes de 2.0-4.0 $\mu\text{g/ml}$ y corresponde a cepas que podrían ser inhibidas por esta combinación pero en las que ATM-CLA no tiene poder bactericidia

6) VALIDACION y CONTROL DE CALIDAD
Controlar rutinariamente los discos de AMC 20/10 μg y ATM 30 μg según lineamientos de CLSI

Bibliografía adicional: Ract et al. J Med Microbiol 2019.
Emeraud C et al AAC 2019, CLSI M100 Ed30 2020.

LABORATORIO NACIONAL/REGIONAL
DE REFERENCIA EN ANTIMICROBIANOS
INEI ANLIS MALBRAN

WWW.ANTIMICROBIANOS.COM.AR

Figura 6. Predifusión rápida Aztreonam – Ceftazidima/avibactam

AZTREONAM-AVIBACTAM

PREDIFUSION RAPIDA

(Actualización Febrero 2021)

ALCANCE DE LA PRUEBA

Dirigida a Enterobacterales productores de:

- MBL ATM^R
- Mutantes KPC CZA^R

• Búsqueda de co-producción de PER en KPC (la R a ATM-AVI es el mejor predictor)

SOLO PARA UTILIZAR CON DISCOS DE CZA 14ug

- 1) Hisope una placa de MHA con una suspensión de la cepa en estudio ajustada al 0,5 McFarland**
- 2) Coloque un disco de ceftazidima avibactam (CZA 14 ug). Deje reposar a T° ambiente por 15 minutos (predifusión rápida)**
- 3) Retire el disco de CZA de manera aseptica, y coloque en su lugar un disco de Aztreonam (ATM 30ug)**
- 4) Incubar a 35 - 37° C por 16-18 hs. Medir el halo de inhibición.**

5) INTERPRETACIÓN y REPORTE

Se define un punto de corte epidemiológico (ECOFF) para ATM-AVI (CIM ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$) y su halo equivalente mediante la predifusión rápida que permite diferenciar las poblaciones salvajes o wild-type de las no-salvajes. El ECOFF es independiente de las distintas dosificaciones que pudieran emplearse.

Las colonias dentro de la zona de inhibición deberán ser consideradas en la lectura (hetero-resistencia)

Halo ≥ 17 mm, equivalente a CIM ≤ 1.0 $\mu\text{g/ml}$: Reportar como cepa SALVAJE o sinergia positiva para ATM-AVI

Halo ≤ 15 mm, equivalente a CIM > 1.0 $\mu\text{g/ml}$: Reportar como cepa NO-SALVAJE o sinergia negativa para ATM-AVI

Halos de 16 mm: se sugiere realizar búsqueda de OXA-163 (inmuno-cromatografía/PCR preferente):

✓ Si OXA negativa: controlar discos de CZA (#6) y repetir ensayo
✓ Si OXA positiva: derivar al LNR

6) VALIDACION y CONTROL DE CALIDAD

Controlar rutinariamente los discos de CZA 14 μg con alguna de las siguientes cepas:

K. pneumoniae ATCC 700603 (BLEE+):
Rango EUCAST: 18 - 24 mm. Target: 21 mm

K. pneumoniae ATCC BAA-1705 (KPC+)*:
Rango PCC-Malbrán: 15 - 21 mm. Target: 18 mm

El ensayo requiere discos de CZA con potencia dentro del rango, idealmente en el target o más

Controlar rutinariamente los discos de ATM 30 μg según lineamientos de CLSI

*Cepa 3 - Encuesta 57 (año 2020) del Programa Nacional de Control de Calidad en Bacteriología

Bibliografía: Pasteran F y cols. ECCMID 2021. EUCAST QC tables routine and extended QC, v11.0, 2021. CLSI M100 Ed30 2020.

LABORATORIO NACIONAL/REGIONAL DE REFERENCIA EN ANTIMICROBIANOS- INEI ANLIS MALBRAN
WWW.ANTIMICROBIANOS.COM.AR

Figura 7. Colocación de los discos para sinergias CZA-EDTA y ATM-APB

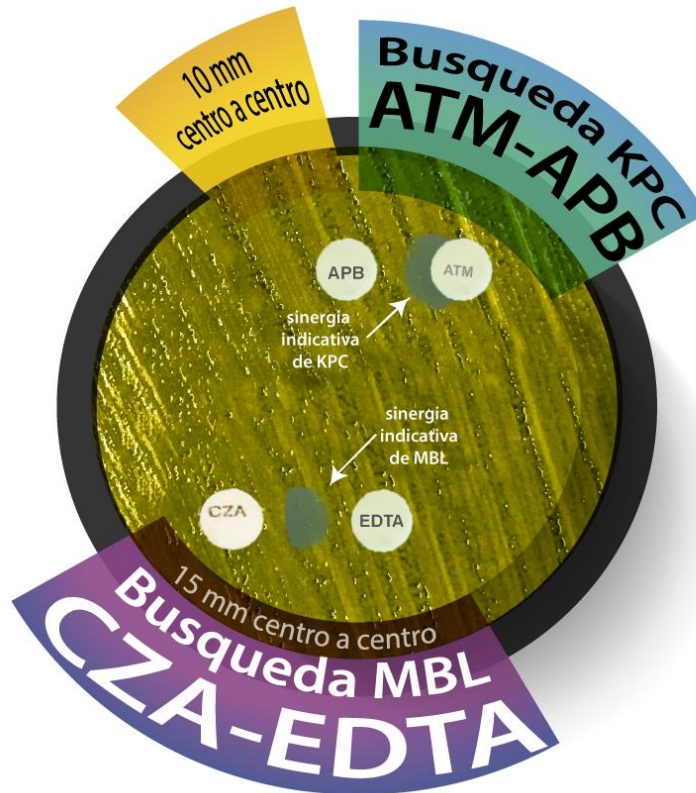


Figura 8. Esquema de colocación de los discos para *Pseudomonas aeruginosa*

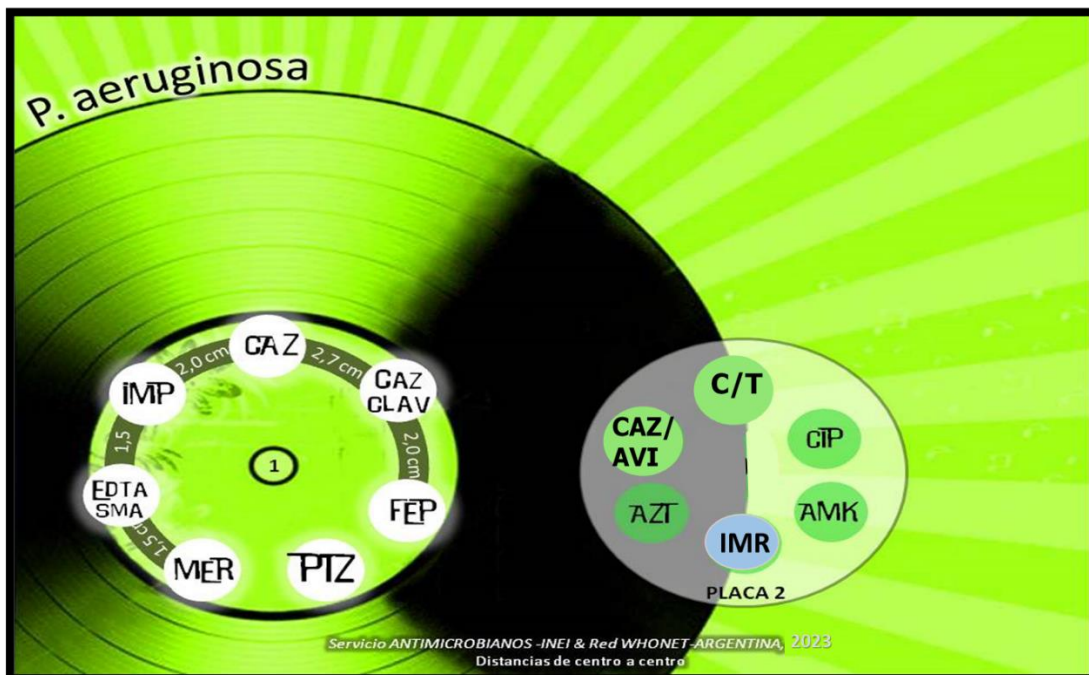


Figura 9. Esquema de colocación de los discos para *Acinetobacter spp.*

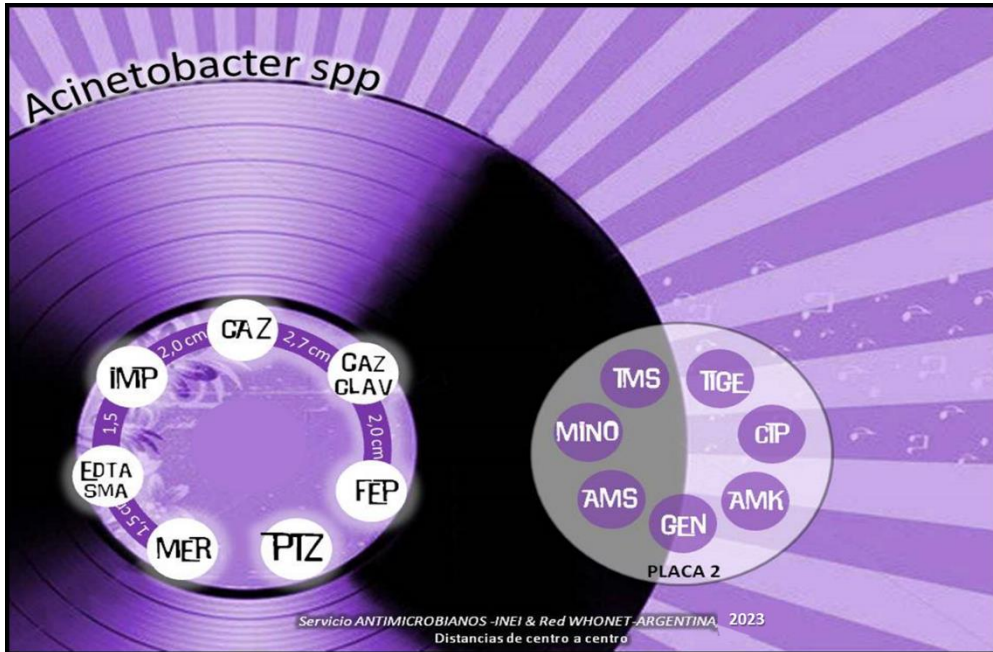


Figura 10. Detección de carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa*

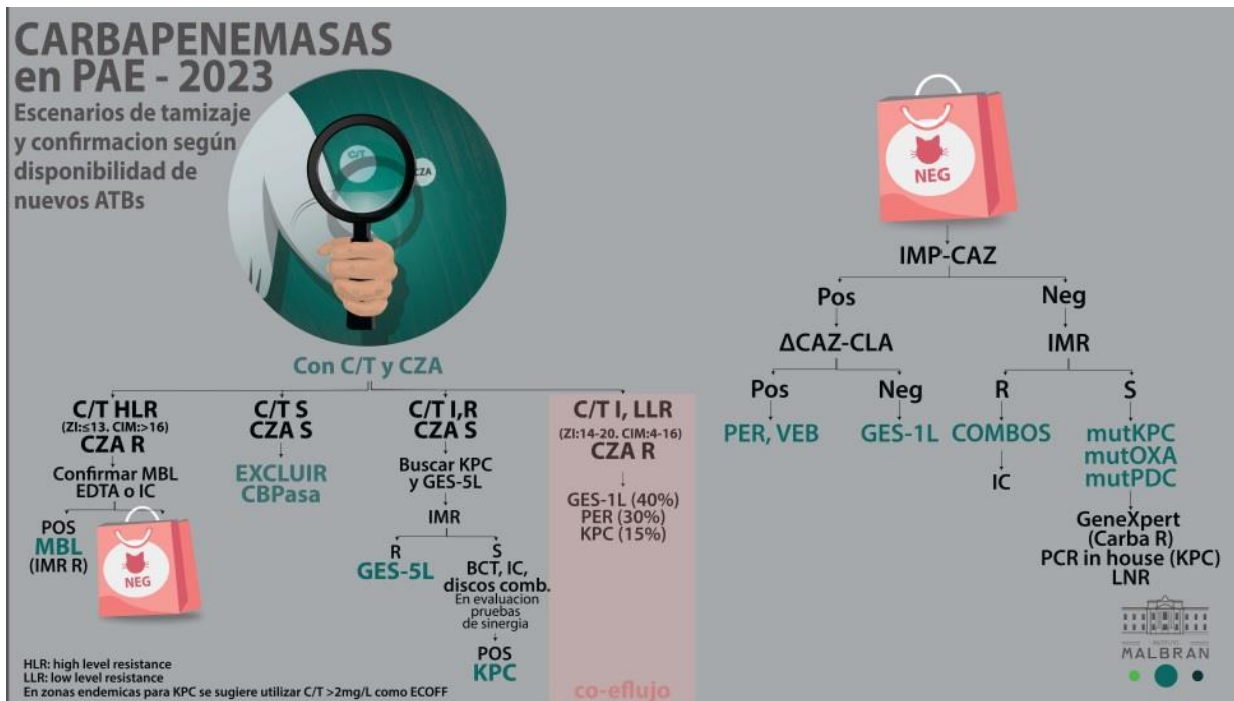


Figura 11. Detección de carbapenemasas en *Acinetobacter* spp.

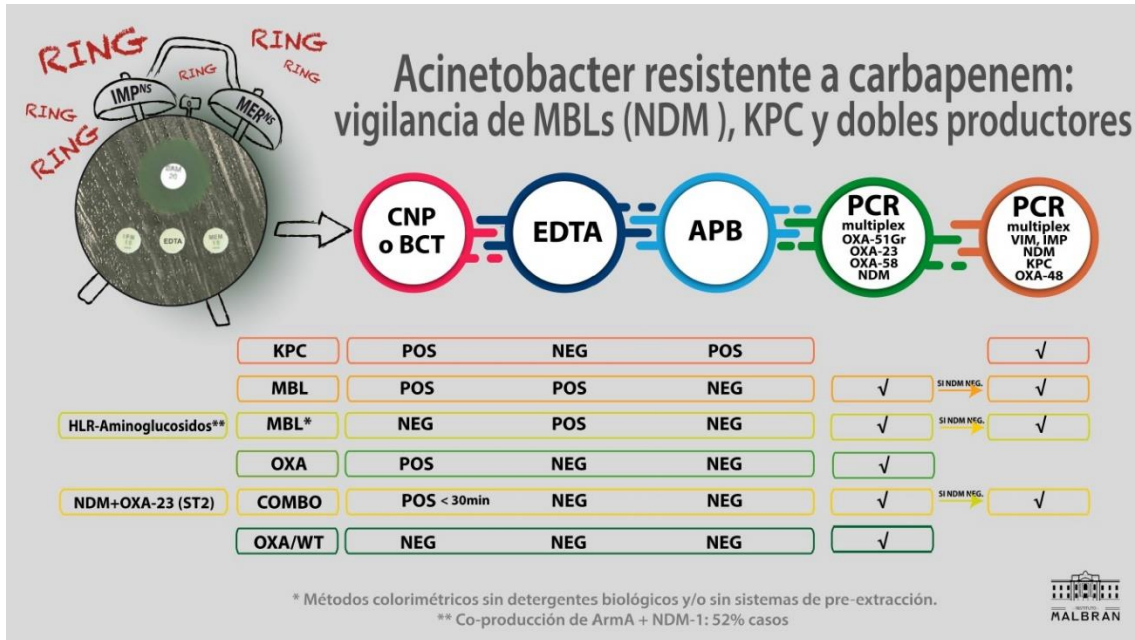


Figura 12. Puntos de corte 2017 para ETB para la interpretación del DCMBrit

**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		≤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 13. Detección de carbapenemasas en Enterobacteriales. Panel CPO Phoenix

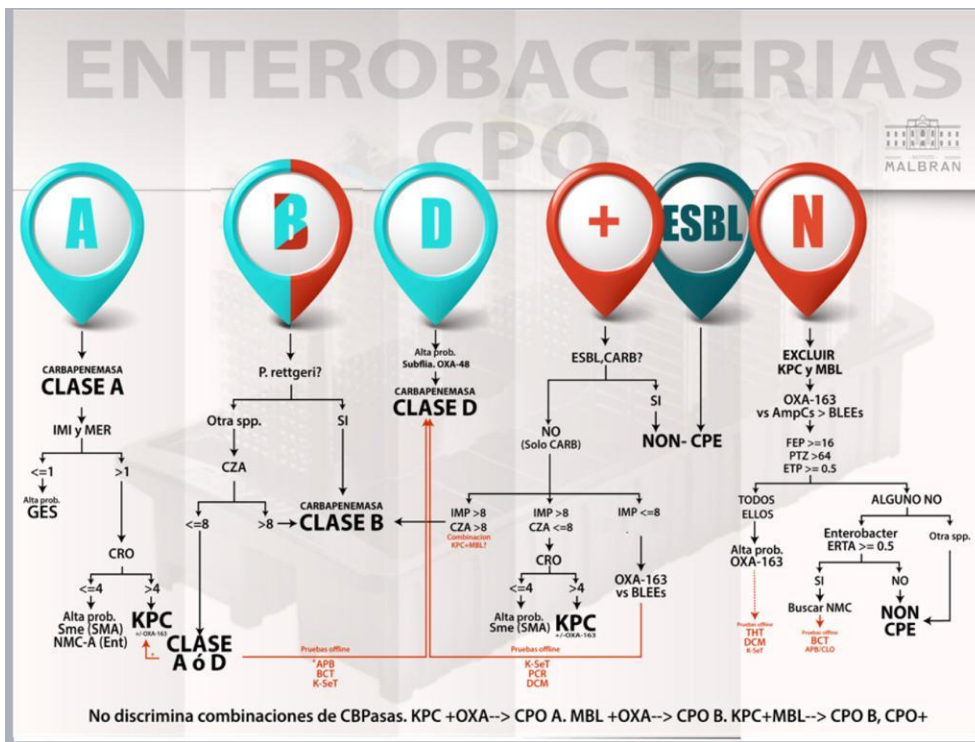


Figura 14. Detección de carbapenemasas en *Pseudomonas* spp. Panel CPO Phoenix

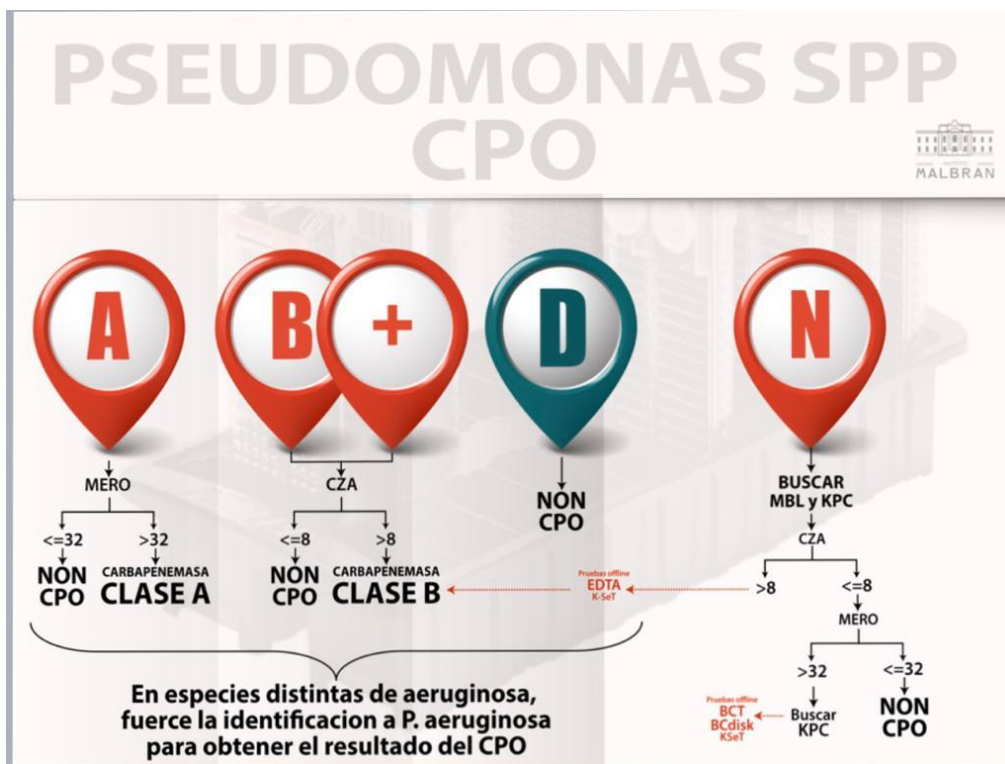
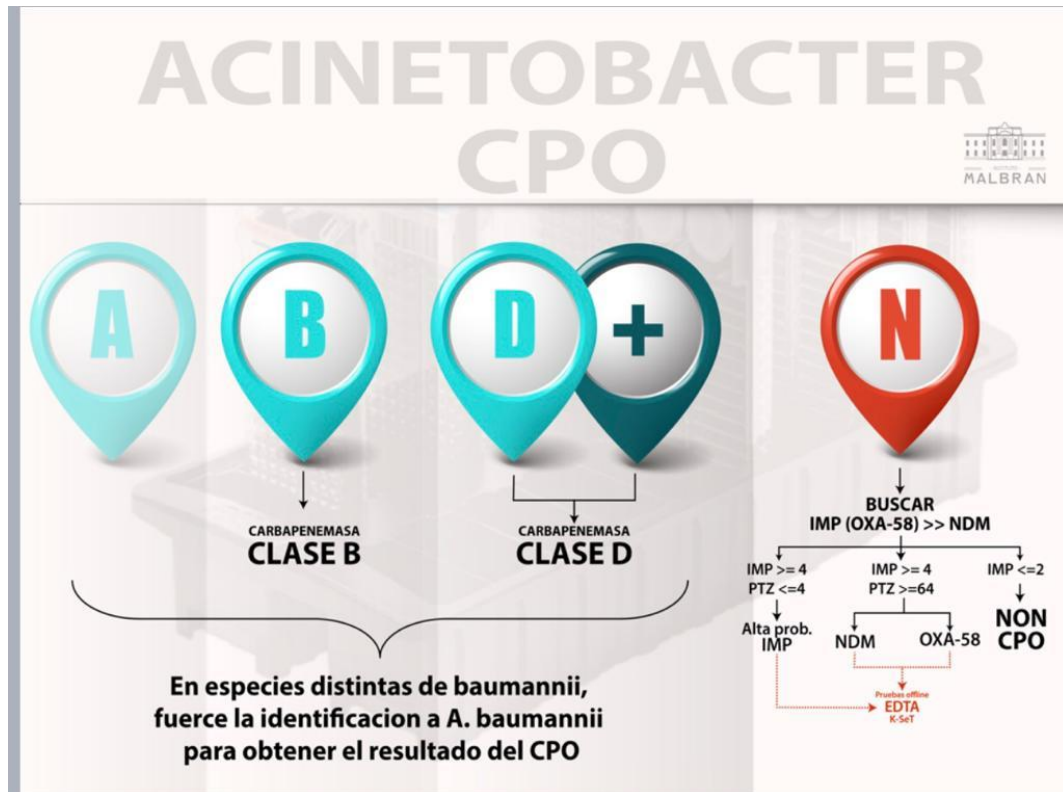


Figura 15. Detección de carbapenemasas en *Acinetobacter* spp. Panel CPO Phoenix





RED de VIGILANCIA de la RESISTENCIA a los ANTIMICROBIANOS WHONET-ARGENTINA - 2023

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	
HIGA "DR JOSE PENNA"	Maria Luz Benvenuto, Mabel Silvia Rizzo, Gloria Razuc
HIGA "DR. A. PIÑEYRO" – JUNIN	Mónica Machain, Jorgelina Suarez, Jimena Roldán
HIGA PTE PERON	Diana Lanzetta, Maria Adelaida Rossetti
HIGA VICENTE LOPEZ Y PLANES	Maria Susana Commisso, Maria Pilar Viñes
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, Sebastian Pérez Catalan, Marcela Perez
HIGA PROFESOR DR. RODOLFO ROSSI	Ruth Carbone, Vanina Torres
HOSPITAL INTERZONAL DE AGUDOS EVA PERÓN	Gabriela Sly, Cecilia Corigliano, Marisa Almuzara
HOSPITAL MUNICIPAL "DR. P. T. ORELLANA"	Maria Cecilia Barracchia, Maria Josefina Guisande
HOSPITAL MUNICIPAL DE AGUDOS DR. LEONIDAS LUCERO	Dina Pedersen, Celeste Martinez
HOSPITAL MUNICIPAL RAMÓN SANTAMARINA	Mónica Sparo, Sabina Lissarrague
HOSPITAL NACIONAL P. DR. ALEJANDRO POSADAS	Adriana Fernandez Laussi, Graciela Priore, Matias Daniel Jara
HOSPITAL ZONAL ESP. MATERNO INFANTIL "ARGENTINA DIEGO"	Stella Maris Altamiranda
HOSPITAL UNIVERSITARIO AUSTRAL	Viviana Vilches, Ivana Martinelli
HOSPITAL ZONAL GRAL. DE AGUDOS VIRGEN DEL CARMEN	Adriana Melo, Antonella Gentilini, Ariel Braidá

CABA	
HOSPITAL DE INFECCIOSAS FRANCISCO JAVIER MUÑIZ	Raquel Rollet
HOSPITAL DE NIÑOS DR. RICARDO GUTIERREZ	Estefanía Biondi, Miryam Vazquez, Adriana Procopio
HOSPITAL DONACION F. SANTOJANNI	Cecilia Ormazabal, Claudia Alfonso
HOSPITAL GRAL. DE AGUDOS P. PIÑERO	Flavia Amalfa
HOSPITAL JUAN A. FERNANDEZ	Laura Errecalde, Laura Scocozza
HOSPITAL PEDRO DE ELIZALDE	Rosana Pereda, Marilina Ines Kuzawka
HOSPITAL UNIVERSITARIO FUNDACIÓN FAVALORO	Patricia Andres, Analía Fernández
FLENI	Carolina Natalia Nuñez
HOSPITAL DE PEDIATRIA S.A.M.I.C. PROF.DR. JUAN GARRAHAN	Adela Isasmendi, Vanesa Reijtman, Maria Eva Garcia
HOSPITAL GRAL. DE AGUDOS DR.COSME ARGERICH	Nora Alejandra Gomez, Natalia Pugliese, Andres Ojeda
CATAMARCA	
HOSPITAL INTERZONAL DE NIÑOS "EVA PERÓN "	Patricia Valdez, Silvia Mariela Farfan, Ariel Segura
HOSPITAL INTERZONAL SAN JUAN BAUTISTA	Paola Alejandra Soldá, Patricia Evangelina Mansilla
CHACO	
HOSPITAL "DR JULIO PERRANDO"	Mariana Carol Rey, Maria Lucrecia Gariboglio Vazquez, Matias Bregant
HOSPITAL "4 DE JUNIO" DR. RAMON CARRILLO	Araceli Soledad Guillén, Claudia Fontan
HOSPITAL PEDIATRICO AVELINO L. CASTELAN	Mónica Graciela Sucin, Viviana Isabel Garcia Saito
CHUBUT	
HOSPITAL REGIONAL DR. SANGUINETTI-COMODORO RIVADAVIA	Marcia Bernaldo De Quiros, Susana Ortiz, Gisela Mamy
HOSPITAL ZONAL ESQUEL	Miriam Lewis
CORDOBA	
HOSPITAL DE NIÑOS DE LA SANTISIMA TRINIDAD DE CORDOBA	Marisa Esther Paredes, Sebastian Caliva
CLINICA REGIONAL DEL SUD	Laura Elena Decca, Claudio Manuel Manchado, Agostina Dagatti
HOSPITAL REGIONAL DR. LUIS PASTEUR - VILLA MARIA	Karina Raimondi
CLÍNICA UNIVERSITARIA REINA FABIOLA	Fabiana Berruezo, Marina Bottiglieri

HOSPITAL GUILLERMO RAWSON	Teresa López, Davor Nicolas Martinovic
HOSPITAL INFANTIL MUNICIPAL DE CÓRDOBA	Liliana Lorena González, Lucrecia Sánchez
HOSPITAL PEDIÁTRICO DEL NIÑO JESÚS	Paulo Cortes, Patricia Gonzalez
HOSPITAL REGIONAL DOMINGO FUNES	Lilia Norma Camisassa, Florencia Ayelén Herrera
CORRIENTES	
HOSPITAL ANGELA IGLESIAS LLANO	Ana Maria Pato, Liliana Ines Gimenez
HOSPITAL PEDIÁTRICO JUAN PABLO II	Juan Pellegrini
INSTITUTO DE CARDIOLOGIA DE CORRIENTES	Mariela Yanina Calza, Maria Elvira Badaracco
ENTRE RIOS	
HOSPITAL D. C. MASVERNAT	Ofelia Moulins, Luis Otaegui
HOSPITAL SAN MARTÍN DE PARANÁ	Mariana Boleas, Gabriela Alcazar
FORMOSA	
HOSPITAL CENTRAL DE FORMOSA	Patricia Arrieta
HOSPITAL DE LA MADRE Y EL NIÑO DE FORMOSA	Maria Silvana Vivaldo
JUJUY	
HOSPITAL MATERNO INFANTIL DR. HECTOR QUINTANA	Gabriela Granados, Romina Tatiana Armella, Rafael Aldo Cosci
HOSPITAL PABLO SORIA	Sonia del Valle Mendieta, Marcelo Gustavo Cabral, Ana Laura Lopez
LA PAMPA	
ESTABLECIMIENTO ASISTENCIAL GOBERNADOR CENTENO	Adriana Pereyra, Andrea Baroni, Ivana Silveyra
HOSPITAL LUCIO MOLAS	Ana Tamborini, Romina Dallo
LA RIOJA	
HOSPITAL DE LA MADRE Y EL NIÑO INMACULADA CONCEPCION DE MARIA	Karina Contreras, Sandra Brac
HOSPITAL REGIONAL "DR. ENRIQUE VERA BARROS"	Sonia Flores, Romina Saavedra



MENDOZA	
HOSPITAL CENTRAL DE MENDOZA	Lorena Contreras, Alberto Ferreyra, Adriana Secotaro
HOSPITAL PEDIÁTRICO DR. HUMBERTO NOTTI	Pablo Porta, Beatriz García
HOSPITAL TEODORO J. SCHESTAKOW	Adriana Acosta, Romina Aguilar
MISIONES	
HOSPITAL SAMIC OBERÁ	Cristina Alicia Gonzalez, Silvia Yanina Schefer
HOSPITAL PROVINCIAL DE PEDIATRÍA "DR. FERNANDO BARREYRO"	Lorena Leguizamón, Beatriz Alarcón
NEUQUÉN	
HOSPITAL DR. HORACIO HELLER	Hermán Sauer, Jesica Soledad Torres
HOSPITAL JUNIN DE LOS ANDES	Maria Paula Castro, Abel Zurschmitten
HOSPITAL PROVINCIAL NEUQUÉN DR. CASTRO RENDÓN	María Rosa Núñez, María Martha Schinchirimini
RÍO NEGRO	
HOSPITAL AREA PROGRAMATICA CIPOLLETTI "DR. PEDRO MOGUILLANSKY"	Mariela Roncallo, Laura Pinoche, Silvana Marinelli
HOSPITAL ARTÉMIDES ZATTI	María Gabriela Rivollier, Irene Alonzo, Maria Carolina Tripodi
HOSPITAL "FRANCISCO LOPEZ LIMA"- GENERAL ROCA	Daniela Durany, Gonzalo Crombas
HOSPITAL ZONAL BARILOCHE	Sabrina De Bunder, Antonella Medoni, Julia Sirvent
SALTA	
HOSPITAL PÚBLICO MATERNO INFANTIL DE SALTA	Maria Magdalena Maresca, Maria José Argoitia
HOSPITAL SAN VICENTE DE PAÚL	Silvia Amador, Lucia Diaz
HOSPITAL SAN BERNARDO	Valeria Mollo, Viviana Silva
SAN JUAN	
HOSPITAL "DR. GUILLERMO RAWSON"	Cintia Reus, Belén Arrieta
HOSPITAL MARCIAL QUIROGA	Nancy Ruth Vega, Beatriz Eugenia Matus
SAN LUIS	
HOSPITAL SAN LUIS	Julio Cesar Garcia, Diego Gabriel Leon



POLICLINICO REGIONAL JUAN D. PERÓN - VILLA MERCEDES	Carina Vanessa Chirino, Nancy Verónica Panini, Maria Carolina Melo
MATERNIDAD PROVINCIAL DRA. TERESITA BAIGORRIA	Germán Dario Ronchi, Natalia Verónica Peralta
HOSPITAL CENTRAL DR. RAMÓN CARRILLO	Roberto Alejandro Lopresti, Georgina Magali Martin
SANTA CRUZ	
HOSPITAL REGIONAL RIO GALLEGOS	Alejandra Vargas, Héctor Omar Belforte, Tamara Reynares
HOSPITAL ZONAL CALETA OLIVIA "PADRE PEDRO TARDIVO"	Miguel Eduardo Castro, Eunice Barrientos Alvarado
SANTA FE	
HOSPITAL ESPAÑOL DE ROSARIO	Noemí Borda, Victoria Rucci, Julieta Freije
HTAL. PROVINCIAL DEL CENTENARIO – FACULTAD DE BIOQUIMICA Y FARMACIA	Jorgelina Pérez, Silvia Larini, Florencia Pastore
HOSPITAL DE NIÑOS "DR. ORLANDO ALASSIA"	Carolina Aro, María Laura Zurbriggen
HOSPITAL DE NIÑOS "VICTOR J. VILELA"	Adriana Ernst
HOSPITAL DR. "JOSE M .CULLEN"	Maria Elena Nardin, Maria Alejandra Mendosa, Sabrina Cristobal
HOSPITAL ROQUE SAENZ PEÑA	Adriana Di Cosco, Carina Conforti
CEMAR	Monica Borgo, Maria Susana Diaz, Graciela Arciero
SANTIAGO DEL ESTERO	
HOSPITAL REGIONAL "DR. RAMÓN CARRILLO"	Mariana Cragolino
TIERRA DEL FUEGO	
HOSPITAL REGIONAL DE USHUAIA	Manuel Boutureira, Carina Andrea De Roccis
HOSPITAL REGIONAL RIO GRANDE	Silvia Longoni, Alejandra Guerra
TUCUMÁN	
HOSPITAL ANGEL C. PADILLA	Natalia Biñón, Alicia Recupero, Mariel Agustina Caceres
HOSPITAL DE CLINICAS DR. NICOLAS AVELLANEDA	Stella Fernández
CENTRO DE MICROBIOLOGIA MEDICA	Humberto Musa, Natalia Iriarte
HOSPITAL DEL NIÑO JESUS	José Daniel Assa, Maria Laura Gonzalez, Evangelina Barrionuevo
HOSPITAL REGIONAL DE CONCEPCIÓN	Lidia Grellet, Augusto Román Monroy, Florencia Peralta