



PROTOCOLO DE TRABAJO RED WHONET ARGENTINA

Acordado en el
"XV Taller WHONET-Argentina"
Córdoba, 16 y 17 de mayo agosto de 2014
Inicio de vigencia desde: 1-9-14
Próxima revisión: antes del 31-12-15

RED WHONET- ARGENTINA

OBJETIVOS

Inmediatos:

Optimizar la calidad del diagnóstico bacteriológico de los laboratorios participantes.

Detección temprana de la aparición de nuevos mecanismos de resistencia o el aumento significativo de los ya existentes.

Organizar una base de datos sobre resistencia bacteriana en espacio y tiempo, y conocer la utilidad de los antimicrobianos de mayor importancia clínica.

A mediano plazo:

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

A largo plazo:

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

Materiales y Métodos:

Determinación de la sensibilidad a los antibacterianos:

Se utilizarán los métodos de: difusión en agar, automatización o dilución en los casos en que sea necesario, según recomendaciones del CLSI vigentes, adoptando e implementando el protocolo establecido y actualizado anualmente por la Red.

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.

Los siguientes listados de gérmenes y antimicrobianos son el resultado del acuerdo logrado entre todos los participantes en el taller de la red realizado en **agosto de 2014**. En rojo figuran las modificaciones introducidas al protocolo original (Versión **Mayo 2010**).

Enterobacterias (excepto enteropatógenos)

Enterobacterias aisladas de infección hospitalaria (otros que *Salmonella* y *Shigella*)

Antibiograma mínimo (tres placas, ver figura 1)

- | | |
|---------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1. Ampicilina | 10. Gentamicina |
| 2. Cefalotina | 11. Amicacina |
| 3. Amoxicilina/ac. clavulánico ² | 12. Trimetroprima/sufametoxazol |
| 4. Cefotaxima ² | 13. Meropenem ⁴ |
| 5. Ceftazidima ² | 14. Polimixina/colistina ³ |
| 6. Cefoxitina (FOX) ¹ | 15. Ac. nalidixico ⁶ |
| 7. Piperacilina/tazobactama | 16. Cefepime ⁸ |
| 8. Imipenem ⁴ | 17. Ertapenem ⁵ |
| 9. Ciprofloxacina ⁶ | 18. Tigeciclina ⁷ |
| | 19. Pefloxacina 5ug⁶ |

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

Agregar en todas las enterobacterias BLEE “-” (negativo) o BLEE “+” (positivo) según lo indique el antibiograma y las pruebas confirmatorias correspondientes.

Colocar el disco de ceftazidima (CAZ) junto al de IMI (a 2.0 cm) para detectar las BLEEs derivadas de GES, PER u otras (Ver esquema de colocación de los discos en la figura 1).

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

¹ FOX: Para control de calidad de la tipificación y estimación del mecanismo de resistencia a antibióticos β -lactámicos presentes. Resistencia a FOX puede implicar la presencia de *Enterobacter* spp. o *Citrobacter freundii*. *Morganella morganii*, *Providencia* spp. o *Serratia* spp. pueden presentar resistencia, resultados intermedios o sensibilidad a esta droga. La resistencia enzimática a cefoxitina prácticamente en la totalidad de los casos es determinada por β -lactamasas tipo AmpC o **carbapenemasas (excepto OXA-163)** y no por BLEE o BLEA. En el caso de *Klebsiella* spp, *Salmonella* spp, *Shigella* spp o *Proteus* spp. resistentes a FOX por

mecanismo enzimático, se debe enviar el aislamiento para confirmar al Servicio Antimicrobianos de la ANLIS (confirmada con sinergias con ácido amino fenil borónico, APB APB sobre C3G o carbapenemes según el mecanismo sospechado, ampC o KPC, respectivamente).

²Ubicar el disco de amoxicilina/ac. clavulánico (AMC) entre los discos de cefotaxima (CTX) y CAZ (25-30mm de separación de centro a centro). Un agrandamiento o deformación de la zona de inhibición de CTX o CAZ en las proximidades del disco de AMC confirma la presencia de β -lactamasas de espectro extendido (efecto "huevo"). Si ese es el caso, cargar en el sistema los diámetros obtenidos con las cefalosporinas de tercera generación y los monobactames pero informar al cuerpo médico resistencia a todas las penicilinas, cefalosporinas (excepto FOX) y monobactames (aztreonam) independientemente que se observe sensibilidad *in vitro* de cualquiera de ellas. Registrar sólo el tamaño de la zona de inhibición correspondiente a CTX o CAZ sin considerar la deformación producida por el inhibidor. Agregar "+" (positivo) en el casillero de BLEE (o "-" en el caso de ser negativo).

Los puntos de corte de sospecha de BLEE son los que figuran en la Tabla 3 A del documento M100S24 del CLSI para *E. coli*, *Klebsiella* spp. y *P. mirabilis* frente a CTX (≤ 27 mm) y CAZ (≤ 22 mm) que se hacen extensivos a aislamientos de *Salmonella* spp. y *Shigella* spp.

En caso de obtener un resultado negativo para la presencia de BLEE interpretar el aislamiento con los nuevos puntos de corte que figuran en la Tabla 2A del CLSI **2014 (M100S24)** e informar R, I o S de acuerdo al halo obtenido para cada cefalosporina (ver figura 2).

Derivar al Servicio Antimicrobianos para confirmación y caracterización todo aislamiento que produzca **BLEE inusual con resistencia a cefepime y sensibilidad a CAZ y CTX ó BLEE de la comunidad en pacientes sin antecedentes de internación en el último año con datos epidemiológicos del caso**

³Resistencia a Polimixina o colistín indica que el aislamiento puede pertenecer a alguna de las siguientes especies **con resistencia natural a polipeptídicos**: *Proteus* spp., *M. morgannii*, *Providencia* spp., *Serratia* spp., *Cedecea* spp. o *Edwardsiella tarda*. En infecciones por cepas multirresistentes sensibles por difusión a COL o POL (halos COL ≥ 11 mm o POL ≥ 12 mm) donde el cuerpo médico requiera utilizarlas como tratamiento, se debe evaluar la actividad por el método de dilución (CIM) de polimixina o colistin y todo aislamiento de *E. coli*, *Klebsiella* spp, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Enterobacter* spp o *Citrobacter* spp resistentes a COL o POL (halos COL ≤ 10 mm o POL ≤ 11 mm, ver tabla de Puntos de corte especiales en página 19) debe ser repetido y confirmado por CIM aunque la droga no se desee usar como tratamiento.

Aclaración: Los puntos de corte mencionados corresponden a *P.aeruginosa* (CLSI **2014 M100-S24** Tabla 2B-1), y en el caso de Enterobacterias, sólo sirven para identificación, y no para informe clínico.

⁴La resistencia a carbapenemes en enterobacterias es **cada vez de mayor frecuencia**. Tener en cuenta el punto de ≤ 22 mm para IMI como screening de presencia de carbapenemasas, excepto en *Salmonella* spp que se utiliza IMI ≤ 24 mm y en tribu Proteae donde las cepas salvajes pueden dar valores de halo de inhibición menores a 22 mm y por lo tanto no es aplicable.

NOTA: Tribu Proteae presenta sensibilidad disminuida a imipenem por lo tanto es esencial observar sensibilidad reducida a ertapenem para sospechar carbapenemasa.

Ante sospecha de presencia de carbapenemasa, seguir esquema de confirmación fenotípica de la figura 3.

NOTA: en centros de salud con elevada prevalencia de KPC, ensayar en el antibiograma inicial el disco de ácido borónico entre IMP y CAZ (ver esquema de colocación de discos, figura 1).

Dado que dispone de los halos originales de IMP y MER, pueden utilizarse distancias ajustadas según estos halos basados en la siguiente fórmula:

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

Ejemplo: IMIPENEM 16 mm; se infiere que APB no da halo de inhibición (es decir 6 mm de halo)

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

Aquellos laboratorios que realicen el esquema de máxima, con los discos de EDTA y APB en el antibiograma inicial, ubicar: EDTA a 2 cm entre los discos de CTX y MER, mientras que el de APB a 2 cm de IMP hacia el centro o periferia de la placa tratando de no interferir la sinergia IMP-CAZ. Frente al aislamiento de una cepa con halo IMI $\leq 22\text{mm}$ y sin sinergia en el antibiograma inicial con APB y/o EDTA, recomendamos confirmar la sinergia ajustando la distancia entre discos según la fórmula indicada anteriormente.

En caso de confirmarse la producción de cualquier tipo de carbapenemasa remitirse al documento “Reglas de Derivación” (www.antimicrobianos.com.ar) donde constan las cepas que deben enviarse, A fines de conocer la situación de cada hospital, se debe registrar la producción de KPC en el campo de serincarbapenemasa. Cabe recordar en este punto que las cepas de colonización no deben ingresarse a WHONET o debe aclararse que se trata de “muestras no representativa= +” o tipo de muestra “screening”.

IMPORTANTE. REGISTRO EN WHONET DE CEPAS PRODUCTORAS DE KPC. Las cepas con IMI $\leq 22\text{mm}$ y sinergia positiva con APB (altamente predictivo de KPC), deben ser cargadas en la base de datos consignando “p” (positivo) en el campo adicional de Serincarbapenemasa. Si la sinergia con APB resultara negativa, consignar “n” en el campo adicional de Serincarbapenemasa. El campo Resistencia Enzimática hace referencia al resultado de los métodos microbiológicos (Para más información remitirse al Instructivo de Carga de Datos en Whonet).

NOTA: En casos de aislamientos productores de carbapenemasas, debido a las escasas opciones de tratamiento disponibles, es recomendable probar el disco de fosfomicina para poder informar la sensibilidad a esta droga para su utilización por vía parenteral. Existen dos formatos comerciales para este disco: fosfomicina 50 µg/ glucosa-6-P 50µg y fosfomicina 200 µg/ glucosa-6-P 50µg) aunque no se dispone de puntos de corte para los mismos para la utilización i.v. de fosfomicina. En vista de esto, el Laboratorio Nacional de Referencia - 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: Puntos de corte no incluidos en el CLSI. Debe tenerse especial cuidado al leer la zona de inhibición de los discos de fosfomicina, por lo que no deben considerarse las colonias dentro del halo de inhibición, sino que debe leerse sólo el crecimiento que genera un halo definido.

⁵Ertapenem es el carbapenem que detecta mejor los bajos niveles de resistencia a esta familia de drogas. Cabe aclarar la elevada inespecificidad para detectar carbapenemasas que presenta este carbapenem. En enterobacterias de Argentina, el genotipo más común que confiere resistencia a ertapenem es la combinación de BLEE

tipo CTX-M con impermeabilidad (menos frecuentemente se ha asociado a β -lactamasa tipo AMP-C). Estas cepas presentan un fenotipo característico de resistencia escalonada a los carbapenemes (ver figura 3). **Se han descrito en Argentina cepas con este perfil que resultaron productoras de carbapenemas por lo tanto en la definición del mecanismo presente se debe jerarquizar las inhibiciones con EDTA y APB frente a la escalera fenotípica. Las carbapenemasas tipo OXA pueden cursar con un fenotipo similar. Para diferenciar los mecanismos duales (BLEE/impermeabilidad) de OXA deben ser evaluados conjuntamente los siguientes Indicadores:**

Marcador fenotípico	OXA-163	CTX-M/ impermeabilidad
ERTA	I, R (98%)	S, I, R
PTZ	≤ 15 mm ≥ 128 mg/ (100%)	Variable (excluir OXA si halo > 15 mm o CIM < 128 mg/L)
CAC-CAZ	≤ 3 mm (85%)	≥ 4 mm (85%)
Blue CARBA*	Negativo (80%) (Reportar carbapenemasa si el resultado es positivo)	Negativo (100%)

* Método de rápido para detección de carbapenemasas: ver protocolo en www.antimicrobianos.com.ar

Estas recomendaciones surgen de estudios realizados en el Servicio Antimicrobianos.

SÓLO SE DEBE INFORMAR ERTAPENEM EN LAS SIGUIENTES INFECCIONES DE LA COMUNIDAD PARA LAS QUE LA DROGA ESTÁ APROBADA PARA TRATAMIENTO:

- Infección urinaria complicada
- Neumonía
- Infecciones de piel y partes blandas
- Infecciones intra-abdominales
- Infecciones genitales

Cabe aclarar que esta droga no tiene actividad, ni debe ser ensayada frente a bacilos gram negativos no fermentadores, enterococos y estafilococos meticilino resistentes.

⁶NAL y PEF se ensayan para detectar la sensibilidad disminuida a FQ, no deben ser informados al médico.

Interpretación e informe de FENOTIPOS de sensibilidad, sensibilidad disminuida o resistencia a FQ en enterobacterias:

METODO DE DIFUSIÓN CON DISCOS

FENOTIPO	CIP mm	NAL mm	PEF mm	Interpretación	Informe de CIP
1	≥ 31	≥ 21	≥ 24	Fenotipo salvaje	S
2	≤ 20	≤ 20	≤ 23	Combinación de mec de R	R
3	21-30	≤ 20	≤ 23	S disminuida a FQ	Sensibilidad Dism FQ
4		≥ 21	≥ 24		

Nota: El fenotipo 4 correspondería a la producción de la enzima AAC6'1b-cr inactivante de aminoglucósidos, CIP y NOR. Este fenotipo debe confirmarse con la evaluación de levofloxacina (LEV). Un halo de LEV superior al de CIP por 5 mm o más indicaría la presencia de este mecanismo. Ni el disco de PEF, ni el disco de NAL son capaces de detectar este mecanismo. Si el delta entre LEV y CIP es menor de 5 mm puede tratarse de un error en el antibiograma (inóculo o lectura) por lo que DEBE REPETIRSE.

METODO DE DILUCIÓN

FENOTIPO	CIP µg/ml	NAL µg/ml	PEF mm	Interpretación	Informe de CIP
1	≤ 0,06	≤ 2	≥ 24	Fenotipo salvaje	S
2	≥ 2	≥ 4	≤ 23	Combinación de mec de R	R
3	0,12-1	≥ 4	≤ 23	S disminuida a FQ	Sensibilidad Dism FQ
4		≤ 2	≥ 24		

En la tabla se consignan los fenotipos más comunes para quinolonas en enterobacterias. Cabe aclarar que pueden existir otros mecanismos o combinaciones que pueden dar fenotipos diferentes a los enunciados.

Hasta diciembre de 2015 se ensayarán los discos de NAL (30µg) y PEF (5µg). Con el análisis de los resultados de este período se decidirá cual de los dos discos se mantendrá en el protocolo de vigilancia como detector de sensibilidad disminuida a las fluoroquinolonas. DURANTE ESTE PERÍODO LOS LABORATORIOS QUE SE COMPROMETIERON DEBEN CONSERVAR LOS AISLAMIENTOS CON SENSIBILIDAD DISMINUIDA A FQ. DE CONSIDERARLO NECESARIO PARA CONFIRMAR LOS RESULTADOS DE ESTA EVALUACIÓN, SI ASI LO REQUIERE, EL LABORATORIO DE REFERENCIA SOLICITARÁ OPORTUNAMENTE EL ENVÍO DE LOS MISMOS. SE HACE EXTENSIVA ESTA SOLICITUD SIN CARÁCTER OBLIGATORIO A LOS DEMÁS LABORATORIOS DE LA RED (para la conservación de las cepas puede utilizarse caldo nutritivo o tripticasa soya con 20% de glicerol a -20° C en envase sellado o cualquier otro método de conservación que garantice la estabilidad de las cepas).

⁷Tigeciclina es una nueva glicilciclina muy activa frente a enterobacterias. Cabe aclarar que no presenta actividad sobre los miembros de la tribu proteae. Se debe informar sólo en los aislamientos provenientes de infecciones intraabdominales, de piel y partes blandas **y neumonías de la comunidad**, en el caso de gérmenes multirresistentes para los cuales no existan otras alternativas de tratamiento o en el caso que el médico lo solicite especialmente para tratamiento de infecciones polimicrobianas. **La droga no debe utilizarse en pediatría salvo que no haya disponible otra opción terapéutica y solo para pacientes entre 8 y 17 años.**

Respecto de los puntos de corte disponibles, estudios de farmacocinética y farmacodinamia permiten afirmar que el propuesto por el EUCAST para el método de CIM (S ≤1.0 µg/ml; R ≥4.0 µg/ml) se ajustaría más apropiadamente a los parámetros PK/PD (pico sérico 0,75 µg/ml para una dosificación de 50mg vía EV cada 12 hs). En estudios realizados en el Servicio Antimicrobianos en cepas de Enterobacterias se pudo observar que ninguno de los puntos de corte de discos disponibles (EUCAST o FDA) logró correlacionarse inequívocamente con estos valores apropiados de CIM (S ≤1.0 µg/ml; R ≥4.0 µg/ml). En función de lo anterior, para el método de CIM, proponemos utilizar los nuevos puntos de corte del EUCAST (S≤ 1.0 µg/ml; R≥ 4.0 µg/ml). Y para aquellos laboratorios que utilicen el método de difusión, basados en un principio precautorio, recomendamos para todas aquellas cepas que serán sometidas a tratamiento con tigeciclina, y hasta nueva actualización, considerar S todas las cepas con halos ≥ 21mm (Correlaciona con CIMes ≤ 1.0 ug/ ml). Este punto de corte poblacional ha sido validado sobre medio MH marca Difco, sin embargo el punto de corte de sensibilidad (no así los intermedios y resistentes) puede ser extrapolado a distintas marcas de MH. Todas aquellas cepas que serán sometidas a tratamiento con tigeciclina y tengan halos entre 17 y 20 mm (confirmado en MH marca Difco), 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.

Todo aislamiento con halo < a 16 mm a esta droga (RESISTENTE), se debe derivar al Servicio Antimicrobianos del INEI-ANLIS para su confirmación y caracterización, previa confirmación en las Instituciones de origen con agar Mueller-Hinton marca Difco.

FORMA DE CARGAR LOS DATOS DE TIGECICLINA Y MINOCICLINA OBTENIDOS EN MEDIO MUELLER HINTON DIFCO: Todo ensayo de minociclina o tigeciclina realizado en medio Mueller Hinton Difco, ya sea primario o confirmatorio de un antibiograma primario realizada en otra marca de agar MH, debe cargarse en el campo incorporado para tal fin: minociclina en MIF y tigeciclina en TDC. Estos campos se incluyen automáticamente en los paneles de drogas cuando se actualiza a un laboratorio WHONET-Argentina con la versión del software WHONET 5.6.

Cabe aclarar que ante la imposibilidad de crear campos nuevos hemos utilizado para este fin drogas preexistentes en desuso:

MIF = Micafungin = Minociclina en MH Difco

TDC = Tiodonium clorhídrico = Tigeciclina en MH Difco

Cuando se trate de una confirmación, no se debe eliminar el dato obtenido con medio de marca distinta a Difco que quedará registrado en los campos originales correspondientes: MNO (minociclina) o TGC (tigeciclina).

Ejemplo

1) Si se utiliza MH Difco para el antibiograma primario y se obtiene un halo de tigeciclina de 20 mm deberá consignarse en TDC

TGC: sin dato

TDC: 20 mm

2) Si se utiliza MH distinto de Difco (Britania, Oxoid, BioMerieux, etc) para el antibiograma primario y se obtiene un halo de tigeciclina de 20 mm (sensible) deberá consignarse en TGC.

TGC: 20 mm

TDC: sin dato

3) Si se utiliza MH distinto de Difco (Britania, Oxoid, BioMerieux, etc) para el antibiograma primario y se obtiene un halo de tigeciclina de 17 mm (intermedio) y al realizar la confirmación en MH Difco se obtiene un halo de 22 mm se cargarán ambos halos en los campos TGC y TDC respectivamente.

TGC: 17 mm

TDC: 22 mm

⁸SENSIBILIDAD DOSIS DEPENDIENTE (SDD): Para el informe de cefepima, referirse a la Tabla 2A y Apéndice E del CLSI M100S24

SISTEMAS AUTOMATIZADOS:

Según lo acordado en el Taller de Córdoba Agosto 2014 los usuarios de sistemas automatizados deberán completar el antibiograma según el protocolo de trabajo vigente. Además, hasta el 31 de diciembre de 2015 todos los usuarios de equipos automatizados deben ensayar por discos CIP, NAL y PEF a todas las enterobacterias independientemente del sitio de aislamiento.

**INFECCIONES URINARIAS
NO COMPLICADAS (INFECCIÓN URINARIA AMBULATORIA DE PACIENTE SIN
PATOLOGÍA DE BASE).**

Antibiograma mínimo (una placa)

1. Ampicilina³
 2. Cefalotina^{1,3}
 3. Ampicilina/sulbactam³
 4. Trimetoprima/sufametoxazol³
 5. Ciprofloxacina^{3,4}
 6. Nitrofurantoina^{2,3}
 7. Ac Nalidixico⁴
 - 8. Pefloxacina⁵**
 - 9. Cefazolina⁶**
-

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

En caso de confirmar una β -lactamasa de espectro extendido en una enterobacteria aislada de una infección urinaria no complicada, las cefalosporinas de segunda y tercera generación se deben informar según el resultado del antibiograma (por lo tanto se deben ensayar). En el caso de confirmar la presencia de BLEE 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 infección urinaria baja no complicada de la comunidad". El resultado de la detección tiene valor epidemiológico.

Derivar al Servicio Antimicrobianos para confirmación y caracterización todo aislamiento que produzca BLEE de la comunidad en pacientes sin antecedentes de internación en el último año con datos epidemiológicos del caso

Gentamicina es otra de las drogas que se podría ensayar porque se utilizan para el tratamiento de este tipo de infecciones. Además es útil como marcador epidemiológico de resistencia. Si se ensaya alguna de estas drogas (u otras) además de las correspondientes al antibiograma mínimo, se debe cargar los resultados de las mismas en la base de datos.

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 enterobacterias (tres placas, ver arriba). Introducir a la base de datos los resultados del antibiograma adicional.

¹En aislamientos de *E. coli*, altamente resistentes a CTN (sin zona de inhibición) confirmar la presencia de BLEE por cualquiera de los métodos disponibles. De obtenerse un resultado positivo agregar "+" (o "-" en el caso de ser negativo) en el casillero de BLEE.

En los aislamientos de *E. coli* de Argentina con halo de CTN ≥ 7 se podría descartar la presencia de BLEE (aunque existen excepciones), en ese caso agregar "-" en el casillero de BLEE. En general el mismo fenómeno se observa para aislamientos de *P. mirabilis* y *K. pneumoniae*

²*Proteus* spp., *M. morgani*, *Providencia* spp. y *Serratia* spp. presentan resistencia natural a los nitrofuranos.

³Ante aislamientos con sensibilidad intermedia, informar "I" y agregar en el informe "Probable éxito de tratamiento en infección urinaria baja no complicada"

⁴Si se obtienen aislamientos con resistencia al NAL pero sensibles a CIP se informa sensibilidad a esta última pero se incluye al pie del informe una aclaración para el médico: "Sensibilidad disminuida a CIP, probable éxito de tratamiento en infección urinaria baja no complicada de la comunidad"

⁵**Ver comentario nro 6 de enterobacterias aisladas de infección hospitalaria. Se debe proceder de igual manera en cuanto a la interpretación de CIP, NAL y PEF y la conservación de los aislamientos, no así en el informe. En el caso de enterobacterias con sensibilidad disminuida fluoroquinolonas en infección urinaria baja no complicada, la detección de estos mecanismos solo tiene valor epidemiológico por lo tanto no debe informarse al médico tratante o hacerlo según la nota 4 anterior a este comentario.**

⁶**En caso de infección urinaria baja no complicada, cefazolina es mejor que cefalotina para predecir la sensibilidad de las cefalosporinas orales (ver nota tabla 2A del documento M100S24). En infecciones urinarias bajas no complicadas informar "sensibilidad a cefalosporinas orales" en función del resultado de cefazolina (punto de corte para IU, OJO no confundir con punto de corte para uso de cefazolina parenteral). Cefazolina y cefalotina se ensayarán en el antibiograma hasta el 31 de diciembre de 2015. En este período se determinará el desempeño de cefazolina en comparación con cefalotina para la sospecha de mecanismos de resistencia a cefalosporinas de espectro extendido y carbapenemes.**

NOTA: CEFAZOLINA ES UN BUEN PREDICTOR DE SENSIBILIDAD A CEFALOSPORINAS ORALES EN IU. ESTA DROGA NO TIENE PRESENTACIÓN ORAL POR LO TANTO NO SE DEBE INFORMAR LA SENSIBILIDAD A CEFAZOLINA EN INFECCIÓN URINARIA BAJA NO COMPLICADA.

SISTEMAS AUTOMATIZADOS:

Según lo acordado en el Taller de Córdoba Agosto 2014 los usuarios de sistemas automatizados deberán completar el antibiograma según el protocolo de trabajo vigente. Además, hasta el 31 de diciembre de 2015 todos los usuarios de equipos automatizados deben ensayar por discos CIP, NAL y PEF a todas las enterobacterias independientemente del sitio de aislamiento y a Cefalotina y cefazolina en infecciones urinarias bajas no complicadas.

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

1. Ampicilina
2. Trimetoprima /sulfametoxazol
3. Ciprofloxacina¹
4. Cefpodoxima^{2,3}
5. Ac. Nalidíxico¹
6. Fosfomicina
- 7. Pefloxacin⁴**
8. Cloranfenicol (sólo para *Salmonella*)
- 8'. Nitrofurantoína (sólo para *Shigella*)
- 9 Azitromicina⁵ (sólo para *Salmonella*)**

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

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

Según el consenso de SADEBAC para enterobacterias, 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 (niños menores de 6 meses, gerontes, inmuno comprometidos y pacientes con prótesis).

¹ La resistencia a quinolonas fluoradas en estos dos enteropatógenos es sumamente inusual. Si se detectara un aislamiento resistente o con sensibilidad reducida repetir la tipificación y la sensibilidad. Resistencia a NAL o PEF indica **al menos** sensibilidad disminuida a CIP (**puede haber resistencia completa**). Es importante que la sensibilidad disminuida sea informada al médico ya que se han descrito fallas de tratamiento en infecciones extraintestinales por *Salmonella* spp. con éstas características. **Para otros perfiles de sensibilidad disminuida a fluoroquinolonas ver comentario ⁶ de enterobacterias.**

² Cefpodoxima (CPD) no debe informarse, se evalúa como “screening” de β -lactamasas de espectro extendido y resistencia a cefalosporinas de tercera generación. En caso de presentarse resistencia a esta droga (halos ≤ 21 mm) se debe confirmar la presencia de BLEE. De obtenerse un resultado positivo agregar “+” (o “-” en el caso de ser negativo) en el casillero de BLEE. Para la sospecha de BLEE en *Salmonella* spp y *Shigella* spp., utilizar los puntos de corte especiales recomendados por CLSI para *E. coli*, *Klebsiella* spp. y *P. mirabilis* frente a CTX y CAZ. Evaluar también la sensibilidad a FOX con el objetivo de diferenciar la resistencia a cefalosporinas de 3^a generación mediada por BLEE de la mediada por enzimas tipo AMP-C plasmídico

³ *Shigella* spp. raramente presenta 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 Servicio Antimicrobianos del INEI para su estudio.

⁴Ver comentario nro 6 de enterobacterias aisladas de infección hospitalaria. Se debe proceder de igual manera en cuanto a la interpretación de CIP, NAL y PEF y

la conservación de los aislamientos, no así en el informe. En el caso de *Salmonella* extraintestinal con sensibilidad disminuida fluoroquinolonas, la detección de este fenotipo debe ser informada al médico según las recomendaciones para *Salmonella* de la Tabla 2 A del documento M100S24 del CLSI. Cabe aclarar que la evaluación de estas tres drogas en *Salmonella* de origen intestinal se debe realizar porque tiene valor epidemiológico.

⁵AZI se comenzó a utilizar a nivel mundial como alternativa de tratamiento de las infecciones extraintestinales por *Salmonella* spp. Los puntos de corte para su interpretación frente a *Salmonella* se encuentran en la tabla “Puntos de corte no incluidos en el CLSI”. Dado que *Salmonella* en general presenta inhibición parcial para esta droga, pueden presentarse zonas de inhibición no definidas o doble halo, por lo tanto, en el caso de realizar pruebas de sensibilidad por el método de difusión (por discos o con tiras de gradiente), la lectura se debe realizar con luz reflejada teniendo en cuenta la inhibición completa.

SISTEMAS AUTOMATIZADOS:

Según lo acordado en el Taller de Córdoba Agosto 2014 los usuarios de sistemas automatizados deberán completar el antibiograma según el protocolo de trabajo vigente. Además, hasta el 31 de diciembre de 2015 todos los usuarios de equipos automatizados deben ensayar por discos CIP, NAL y PEF a todas las enterobacterias independientemente del sitio de aislamiento.

Vibrio cholerae

Drogas acordadas

1. Tetraciclina
2. Ampicilina
3. Trimetoprima/
Sufametoxazol
4. Cloranfenicol
5. Nitrofuranos¹
6. Eritromicina²
7. Norfloxacin¹

¹Utilizar puntos de corte de enterobacterias.

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

P. aeruginosa

Antibiograma de mínima (dos placas, ver figura 4)

- | | |
|-------------------------------------|----------------------------------------------|
| 1. Gentamicina | 9. Amicacina |
| 2. Ceftazidima ⁶ | 10. Piperacilina/tazobactam |
| 3. Piperacilina | 11. Aztreonam |
| 4. Cefepime | 12. EDTA ⁵ |
| 5. Imipenem ^{2, 6} | 13. ceftazidima/ac. clavulánico ⁷ |
| 6. Ciprofloxacina | 14. ⁹ |
| 7. Polimixina/colistín ¹ | |
| 8. Meropenem ² | |

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

Acinetobacter spp.

Antibiograma de mínima (dos placas, ver figura 5)

1. Gentamicina	8. Amicacina
2. Ceftazidima ⁶	9. Piperacilina/tazobactam
3. Cefepime	10. Ampicilina/sulbactam ³
4. Imipenem ^{2, 6}	11. Minociclina ⁴
5. Ciprofloxacina	12. Trimetoprima-sulfametoxazol
6. Polimixina/colistín ¹	13. EDTA ⁵
7. Meropenem ²	14. ceftazidima/ac. clavulánico ⁷
	15. Tigeciclina ⁸

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

¹En *P. aeruginosa*, la resistencia a polimixina o colistín es sumamente inusual en estos microorganismos. Si se detectaran aislamientos resistentes repetir tipificación y sensibilidad y enviar el aislamiento al Servicio de Antimicrobianos del INEI para su confirmación. En infecciones por cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* o *Acinetobacter spp.* sensibles a COL o POL por difusión donde el médico quiere utilizarlas como tratamiento, se debe evaluar la actividad de polimixina ó colistín por el método de dilución.

² La resistencia a los carbapenemes en estos microorganismos es cada vez más común y en general, los aislamientos que la presentan, suelen ser además multirresistentes. 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.

³El sulbactam tiene actividad *per se* sobre *Acinetobacter spp.*

⁴Los aislamientos multirresistentes de *Acinetobacter spp.* suelen presentar sensibilidad a minociclina pero no a tetraciclina. Confirmar todo resultado de no sensibilidad a MINOCILCLINA en agar MH Difco. (Ver FORMA DE CARGAR LOS DATOS DE TIGECICLINA Y MINOCICLINA OBTENIDOS EN MEDIO MUELLER HINTON DIFCO en referencia ⁸).

⁵Para los que cuentan con aplicador, colocar el disco de EDTA, entre los discos de imipenem y meropenem, a 1 cm del borde del disco de imipenem o 1.5 de centro a centro. Ver flujograma para detección de carbapenemasas en *Pseudomonas spp.* en figura 6.

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

⁶Colocar el disco de CAZ al lado del de IMP (efecto huevo puede indicar presencia de BLEE inhibible por imipemen como por ej. GES)

⁷Para 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

⁸Tigeciclina es una gliciliciclina muy activa frente a *Acinetobacter spp* pero inactiva sobre *P. aeruginosa*. Se debe ensayar en todos los aislamientos de *Acinetobacter spp.*

pero informar sólo en los aislamientos provenientes de infecciones intraabdominales, de piel y parte blandas, **y neumonías de la comunidad**, en el caso de gérmenes multirresistentes para los cuales no existan otras alternativas de tratamiento o en el caso que el médico lo solicite especialmente para tratamiento de infecciones polimicrobianas. **La droga no debe utilizarse en pediatría salvo que no haya disponible otra opción terapéutica y solo para pacientes entre 8 y 17 años.**

Todo aislamiento con halos \leq a 16 mm a esta droga, previa confirmación con agar MH Difco, se debe derivar al Servicio Antimicrobianos del INEI-ANLIS para su confirmación y caracterización.

Para volcar los resultados de sensibilidad de minociclina y tigeciclina ver punto ⁷ de enterobacterias "FORMA DE CARGAR LOS DATOS DE TIGECICLINA Y MINOCICLINA..."

⁹Se elimina el disco de Doripenem del antibiograma de *P. aeruginosa*. El mismo se comporta en forma similar al meropenem por lo que no sería necesario para la vigilancia epidemiológica. En aquellos casos en que se necesite conocer la sensibilidad a doripenem para utilizarlo como tratamiento es recomendable probar el disco e interpretarlo según los puntos de corte CLSI vigentes.

Ver esquema de colocación de los discos para *P. aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. en figura 4 y 5

SISTEMAS AUTOMATIZADOS:

Según lo acordado en el Taller de Córdoba Agosto 2014 los usuarios de sistemas automatizados deberán completar el antibiograma según el protocolo de trabajo vigente.

Burkholderia cepacia

Antibiograma (una placa)

- | | |
|----------------|--------------------------------|
| 1. Ceftazidima | 3. Minociclina |
| 2. Meropenem | 4. Trimetoprima-sulfametoxazol |
| | 5. Doripenem (opcional) |

Stenotrophomonas maltophilia

Antibiograma (una placa)

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

Staphylococcus spp

Antibiograma de mínima (excepto IU)

2 placas

- | | |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 1. Ceftarolina | 8. Minociclina |
| 2. Vancomicina ¹ | 9. Ciprofloxacina |
| 3. Eritromicina ² | 10. Rifampicina |
| 4. Clindamicina ² | 11. Tigeciclina ⁵ |
| 5. Trimetoprima/ sulfametoxazol | 12. Linezolid ⁶ |
| 6. Teicoplanina | 13. Cefoxitina ^{3,4,7} (no informar) |
| 7. Gentamicina | 14. Ac. fusídico (informar en materiales de piel y partes blandas) |

Antibiograma Infección urinaria (1 placa)⁸

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

Reemplazar el disco de OXA por el de ceftarolina para *S. aureus* e interpretar según CLSI 2014 (OXA ya no se debe probar en ninguna especie de *Staphylococcus*). A partir de este año la meticilino resistencia en *Staphylococcus spp* se determinará a través del ensayo del disco de cefoxitina únicamente. Tener en cuenta que se han reportado aislamientos no sensibles a ceftarolina en SAMR especialmente en Latinoamérica y Asia. Cualquier aislamiento con halos $\leq 23\text{mm}$ (o CIM $\geq 1\mu\text{g/ml}$) debe confirmarse y de mantenerse los resultados remitir al Laboratorio de Antimicrobianos de la ANLIS para su confirmación.

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

¹La 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 un poco más común en *Staphylococcus coag. Neg.* (especialmente *S. haemolyticus*). En caso de enfrentarse a un aislamiento de ***Staphylococcus aureus* con CIMs de VAN $\geq 4\mu\text{g/ml}$ o SCN con CIMs de VAN $\geq 16\mu\text{g/ml}$** debe confirmarse la identificación y la sensibilidad y enviarlo al Servicio Antimicrobianos del INEI. En vista de las fallas de tratamiento documentadas por cepas que presentan CIMs de 2 y la falla del disco de VAN para detectarlas, CLSI recomienda discontinuar el uso de este disco. Independientemente de esta recomendación debe ensayarse el disco de VAN en todos los aislamientos de *Staphylococcus* y en infecciones severas (bacteriemia, endocarditis, infecciones del sistema nervioso central, neumonía, osteomielitis o mediastinitis) por SAMR, se debe realizar la CIM a VAN, nunca informar la sensibilidad a vancomicina en *Staphylococcus* obtenida por el método de difusión con discos. En caso de obtener un valor de CIM=2 ug/ml, se informa: "EL AISLAMIENTO PRESENTA SENSIBILIDAD A

VANCOMICINA DE ACUERDO A LOS PUNTOS DE CORTE RECOMENDADOS POR EL CLSI, A PESAR DE ESTO LA SENSIBILIDAD ES "BORDERLINE" Y POR LO TANTO DEBERÁ MONITOREARSE ESTRECHAMENTE EL PROGRESO DEL TRATAMIENTO PORQUE SE HAN DOCUMENTADO FALLAS CON ESTE VALOR DE CIM".

La predifusión es un método útil para la detección de resistencia a drogas con pobre difusión en el agar como vancomicina y daptomicina en *Staphylococcus* spp o la resistencia a polipéptidos (POL o COL) en bacilos gram negativos no fermentadores. En el Taller 2010 hemos acordado que la realización de esta prueba en la Red es optativa.

El protocolo de trabajo para la detección de VISA, GISA y heteroVISA por el método de predifusión 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 y removerlas después de 2 hs a temperatura ambiente 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° "overnigth"
- 5) Medir las zonas de inhibición y comparar con los puntos de corte correspondientes

Puntos de corte:

Para HeteroVISA y HeteroGISA

VAN= ≤22 mm

ó

TEI= ≤20 mm

Para VISA y GISA

VAN= ≤22 mm

y

TEI= ≤20 mm

²Ubicar el disco de eritromicina a 15 a 26 mm del de clindamicina (de borde a borde). Aclarar si hay un mecanismo de resistencia inducible (achatación de la zona de inhibición producida por el disco de clindamicina en las proximidades del disco de ERY). Si se observa este achatación del halo de clindamicina se debe informar resistencia a esta droga a pesar que parezca sensible por el diámetro de la zona de inhibición (en WHONET ingresar el halo de CLI sin tener en cuenta el achatación). En caso de obtener un antibiograma disociado con 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. En caso de sensibilidad o resistencia a ambas drogas no es necesario completar el campo de MLS.

³Ante la resistencia o sensibilidad a FOX, informar metilino resistente o metilino sensible respectivamente

⁴En el caso de continuar con la evaluación de OXA (no obligatorio) las disociaciones entre el resultado de FOX y OXA debe procederse según la especie:

- a) En *S. aureus* informar directamente según el antibiótico que resultara más Resistente.
- b) En *Staphylococcus coagulans* negativa informar según el resultado de FOX.

⁵Tigeciclina es una gliciliciclina muy activa frente a cocos +. Se debe ensayar en todos los aislamientos de *Staphylococcus* spp. pero informar sólo en los aislamientos

provenientes de infecciones intraabdominales, de piel y parte blandas, **y neumonías de la comunidad**, en el caso de gérmenes multirresistentes para los cuales no existan otras alternativas de tratamiento o en el caso que el médico lo solicite especialmente para tratamiento de infecciones polimicrobianas. **La droga no debe utilizarse en pediatría salvo que no haya disponible otra opción terapéutica y solo para pacientes entre 8 y 17 años.**

Todo aislamiento con halo ≤ 18 mm a esta droga debe confirmarse en medio MH Difco y de mantenerse el resultado se debe derivar al Servicio Antimicrobianos del INEI-ANLIS para su confirmación y caracterización.

Para volcar los resultados de sensibilidad de minociclina y tigeciclina ver punto ⁷ de enterobacterias "FORMA DE CARGAR LOS DATOS DE TIGECICLINA Y MINOCICLINA..."

⁶Aún es muy inusual la resistencia a linezolid en *Staphylococcus* spp. Todo aislamiento con halo ≤ 20 mm a esta droga se debe derivar al Servicio Antimicrobianos del INEI-ANLIS para su confirmación y caracterización.

⁷En caso de meningitis estafilococcicas por cepas meticilino sensibles realizar CIM a CTX o CRO.

⁸En caso de aislamientos de *Staphylococcus aureus* de orina considerar la posibilidad de bacteriemia asociada y por lo tanto evaluar la sensibilidad a rifampicina y gentamicina. Si la cepa fuera meticilino resistente ensayar además vancomicina.

⁹En caso de *S. lugdunensis* utilizar los puntos de corte de FOX para *S. aureus*.

SISTEMAS AUTOMATIZADOS:

Según lo acordado en el Taller de Córdoba Agosto 2014 los usuarios de sistemas automatizados deberán completar el antibiograma según el protocolo de trabajo vigente.

Enterococcus spp

Antibiograma de mínima (infección severa, una placa)

1. Ampicilina
2. Teicoplanina¹
3. Vancomicina¹
4. Gentamicina alta carga
5. Estreptomicina alta carga
6. Ampicilina-sulbactam²

VRE

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

1. Linezolid
2. Minociclina
3. Tigeciclina³

SISTEMAS AUTOMATIZADOS:

Según lo acordado en el Taller de Córdoba Agosto 2014 los usuarios de sistemas automatizados deberán completar el antibiograma según el protocolo de trabajo vigente.

Enterococcus spp en IU

Antibiograma mínimo para infecciones urinarias no complicadas

1. Ampicilina
2. Teicoplanina¹
3. Vancomicina¹
4. Ciprofloxacina
5. Nitrofuranos

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

¹La resistencia adquirida a los glucopéptidos (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 glucopéptidos por métodos cuantitativos.

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

²Si bien no se cuenta con puntos de corte sugeridos por el CLSI para la interpretación de AMS para enterococos, la evaluación del diámetro de inhibición de esta droga comparado con el de ampicilina ($\Delta \geq 5$) nos puede alertar de la presencia de una β -lactamasa (especialmente útil para *E. faecalis*). En ese caso se debe confirmar la sensibilidad mediante una determinación de la actividad enzimática por alguno de los métodos convencionales (por ej. nitrocefín). Si se confirma la presencia de la enzima se debe informar resistencia a ampicilina y las demás penicilinas a pesar de la aparente sensibilidad *in vitro*.

³Tigeciclina es una nueva gliciliciclina muy activa frente a cocos +. Se debe ensayar e informar en todos los aislamientos de *Enterococcus* spp. vancomicino resistente. **La droga no debe utilizarse en pediatría salvo que no haya disponible otra opción terapéutica y solo para pacientes entre 8 y 17 años.** Todo aislamiento con halo ≤ 18 mm a esta droga debe confirmarse en medio MH Difco y de mantenerse el resultado se debe derivar al Servicio Antimicrobianos del INEI-ANLIS para su confirmación y caracterización.

Para volcar los resultados de sensibilidad de minociclina y tigeciclina ver punto ⁷ de enterobacterias "FORMA DE CARGAR LOS DATOS DE TIGECICLINA Y MINOCICLINA..."

Streptococcus pneumoniae

Antibiograma de mínima (una placa)

1. Oxacilina
2. Eritromicina¹
3. Clindamicina¹
4. Levofloxacina²
5. Trimetoprima/sufametoxazol

En el caso de *S. pneumoniae* resistente a oxacilina realizar siempre concentración inhibitoria mínima para penicilina y cefotaxima o ceftriaxona.

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

Antibiograma completo (dos placas)

1. Oxacilina
2. Eritromicina¹
3. Clindamicina¹
4. Levofloxacina²
5. Trimetoprima/sufametoxazol
6. Vancomicina
7. Rifampicina
8. Tetraciclina
- 9. Ceftarolina**

En el caso de *S. pneumoniae* resistente a oxacilina realizar siempre concentración inhibitoria mínima para penicilina y cefotaxima o ceftriaxona.

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

Ensayar Ceftarolina en la segunda placa del antibiograma completo (que contendrá VAN, RFA, TET y Ceftarolina) e interpretar según CLSI 2014. No se han comunicado hasta el momento cepas de *S. pneumoniae* no sensibles a Ceftarolina. Cualquier aislamiento con halos $\leq 25\text{mm}$ (o CIM $\geq 1\mu\text{g/ml}$) debe ser remitido al Laboratorio de Antimicrobianos de la ANLIS para su confirmación.

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

¹Ubicar el disco de eritromicina a 12 mm del borde del de clindamicina (de borde a borde). Aclarar si hay un mecanismo de resistencia inducible (achatamiento de la zona de inhibición producida por el disco de clindamicina en las proximidades del disco de ERY). Si se observa este achatamiento del halo de clindamicina se debe informar resistencia a esta droga a pesar que parezca sensible por el diámetro de la zona de inhibición. En caso de obtener un perfil de sensibilidad a clindamicina y resistencia eritromicina, completar el campo de MLS indicando en todos los casos si es positivo, "p" (achatamiento del halo de CLI en las cercanías de eritromicina) o negativo "n" si no se observa deformación del halo de CLI. De observarse fenotipo MLS_b inducible enviar el aislamiento al Servicio Antimicrobianos del INEI para su confirmación.

²La 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 enviar el aislamiento al Servicio Antimicrobianos del INEI para su confirmación.

³Aún 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, enviarlo al Servicio Antimicrobianos para su estudio.

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 discos) |
| 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 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 medio de concentración inhibitoria mínima.

Streptococcus β -hemolíticos

Antibiograma de mínima para estreptococos β -hemolíticos

1. Penicilina
2. Eritromicina
4. Clindamicina
5. Levofloxacina

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. Levofloxacina se evalúa sólo con fines epidemiológicos, en ningún caso se debe informar al médico. Ubicar el disco de eritromicina a 12 mm del borde del de clindamicina (de borde a borde). Aclarar si hay un mecanismo de resistencia inducible (achatación de la zona de inhibición producida por el disco de clindamicina en las proximidades del disco de ERY). Si se observa este 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.

*Haemophilus spp***

Antibiograma de mínima (dos placas)

1. Ampicilina	5. Trimetoprima/sulfametoxazol
2. Cloranfenicol	6. Amoxicilina/clavulánico ²
3. Azitromicina ³	7. Ac. nalidixico ¹
4. Cefaclor ²	8. Cefuroxima ²

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.

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

¹No 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.

^{2,3}La resistencia a estas drogas en *Haemophilus* spp. continúa siendo muy inusual. Si se detectara un aislamiento resistente a alguna de ellas, repetir la tipificación y la sensibilidad. En caso de confirmarse los resultados, enviarlo al Servicio Antimicrobianos para su estudio y caracterización.

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. Acido Nalidíxico ¹ | |

¹No informar NAL pero si se observa resistencia a esta droga, **probar CIP e informar sensibilidad disminuida o resistencia según el resultado del antibiograma**. Aun no se ha descrito resistencia a QF en meningococo y la sensibilidad disminuida a estas drogas es muy 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, enviarlo al Servicio Antimicrobianos para su estudio y caracterización.

Puntos de corte no incluidos en el CLSI

Antibiótico	Carga	Sensible	Intermedio	Resistente
Colistín ¹		≥ 11		≤ 10
Polimixina ¹	300 UI	≥ 12		≤ 11
Fosfomicina I.V / glucosa-6-P ²	50 µg/50µg	≥ 15	13-14	≤12
Fosfomicina I.V / glucosa-6-P ²	200 µg/50µg	≥ 17	16-14	≤15
Ac. Fusídico ³	10 µg	≥ 22		<22
Tigeciclina ⁴	15 µg	≥ 19	15-18	≤ 14
Tigeciclina ⁵	15 µg	≥ 21	20-17	< <u>16</u>
Mupirocina	200 µg	> 06		No halo
Mupirocina	CIM			≥ 512 µg/ml
Rifampicina ⁶	30µg	≥19mm		<14mm
Azitromicina⁷	15 µg	≥13mm		≤12
Azitromicina⁷	CIM	≤16		≥ 32 µg/ml
Pefloxacin⁷	5 µg	≥24mm		≤ 23

¹ Puntos de corte CLSI 2010 (M100-S20 Tabla 2B-1) correspondientes a *P.aeruginosa*. Al emplearlos para aislamientos de Enterobacterias, serán válidos únicamente para identificación; no para informe clínico.

² Según Pasteran y cols. JIDC, 2012

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

⁴ Punto de corte válido para enterobacterias sugerido por FDA. Cabe aclarar que los puntos de corte de Tigeciclina para *Acinetobacter* spp. están aún en estudio. Por el momento extenderemos el punto de corte de enterobacterias a este germen.

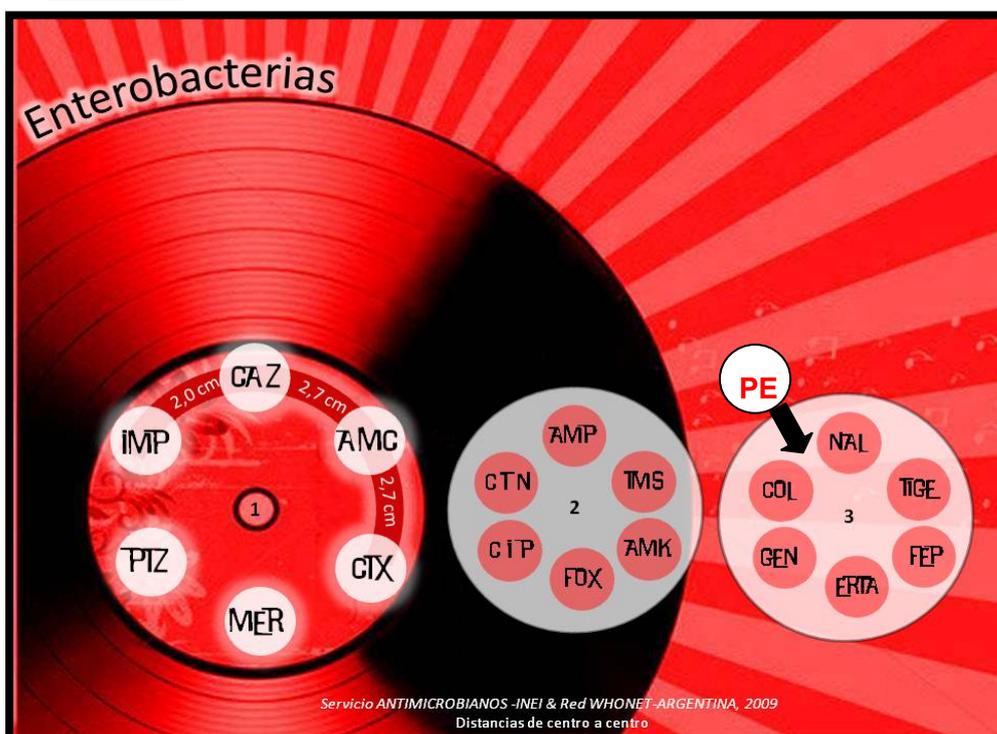
Respecto de los puntos de corte disponibles, estudios de farmacocinética y farmacodinamia permiten afirmar que el propuesto por el EUCAST para el método de CIM ($S \leq 1.0 \mu\text{g/ml}$; $R \geq 4.0 \mu\text{g/ml}$) se ajustaría más apropiadamente a los parámetros PK/PD (pico sérico $0,75 \mu\text{g/ml}$ para una dosificación de 50mg vía EV cada 12 hs). En estudios realizados en el Servicio Antimicrobianos en cepas de Enterobacterias se pudo observar que ninguno de los puntos de corte de discos disponibles (EUCAST o FDA) logró correlacionarse inequívocamente con estos valores apropiados de CIM ($S \leq 1.0 \mu\text{g/ml}$; $R \geq 4.0 \mu\text{g/ml}$). En función de lo anterior, para el método de CIM, proponemos utilizar los nuevos puntos de corte del EUCAST ($S \leq 1.0 \mu\text{g/ml}$; $R \geq 4.0 \mu\text{g/ml}$). Y para aquellos laboratorios que utilicen el método de difusión, basados en un principio precautorio, recomendamos para todas aquellas cepas que serán sometidas a tratamiento con tigeciclina, y hasta nueva actualización, considerar S todas las cepas con halos $\geq 21\text{mm}$. Este punto de corte poblacional ha sido validado sobre medio MH marca Difco, por lo tanto no se recomienda su extrapolación a marcas distintas hasta que ello pueda ser oportunamente validado. En cepas con halos $\geq 21\text{mm}$ por disco en este medio MH podrá asegurarse CIMes $\leq 1.0 \mu\text{g/ml}$ (SENSIBLE). Todas aquellas cepas que serán sometidas a tratamiento con tigeciclina y tengan halos entre 17 y 20 mm (confirmado en MH marca Difco), deberán ser confirmadas por CIM. Aquellos laboratorios que dispongan de E-test, podrán usar esta herramienta para confirmación. Pero deberán tener presente que también este método tiene asociada una tendencia a dar valores de CIM 1 o 2 diluciones por encima de la CIM determinada por dilución en caldo.

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

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

⁷Puntos de corte incluidos en la tabla 2A del documento del CLSI M100S25. Próximos a publicarse en enero 2015

Figura 1: Esquema de colocación de los discos para enterobacterias



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

Figura 2: FLUJOGRAMA PARA LA DETECCION E INFORME DE BLEE EN ENTEROBACTERIAS POR EL METODO DE DIFUSION POR DISCOS

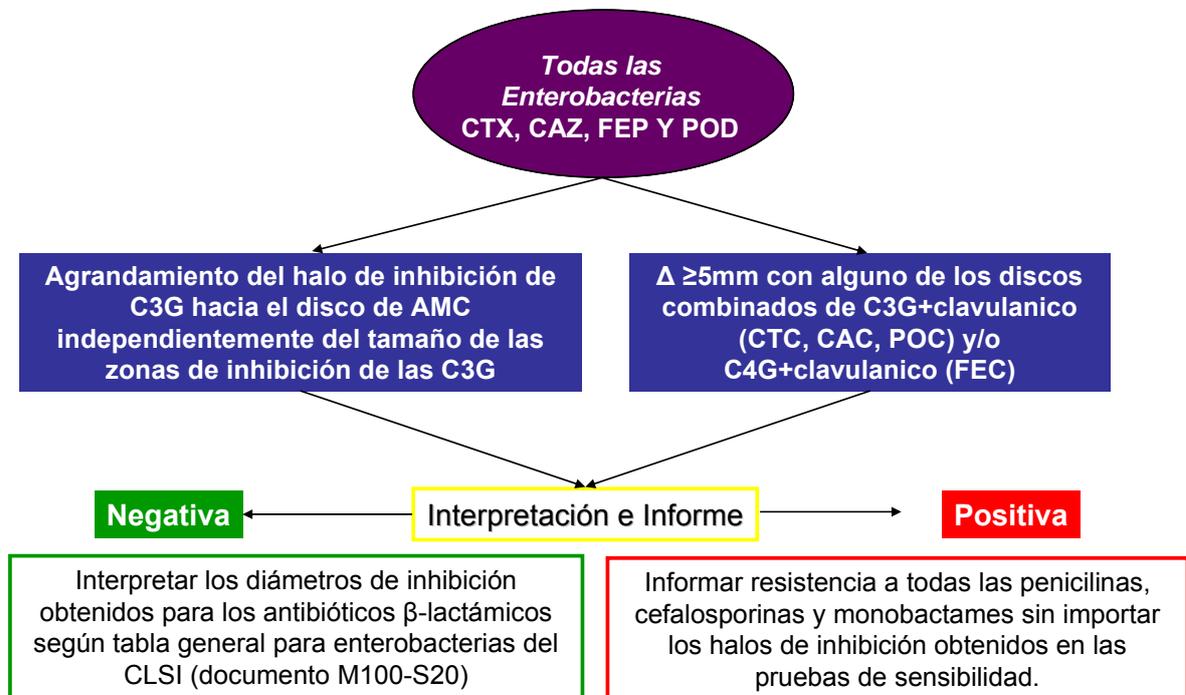


Figura 3: Flujoograma para detección de carbapenemasas en enterobacterias.

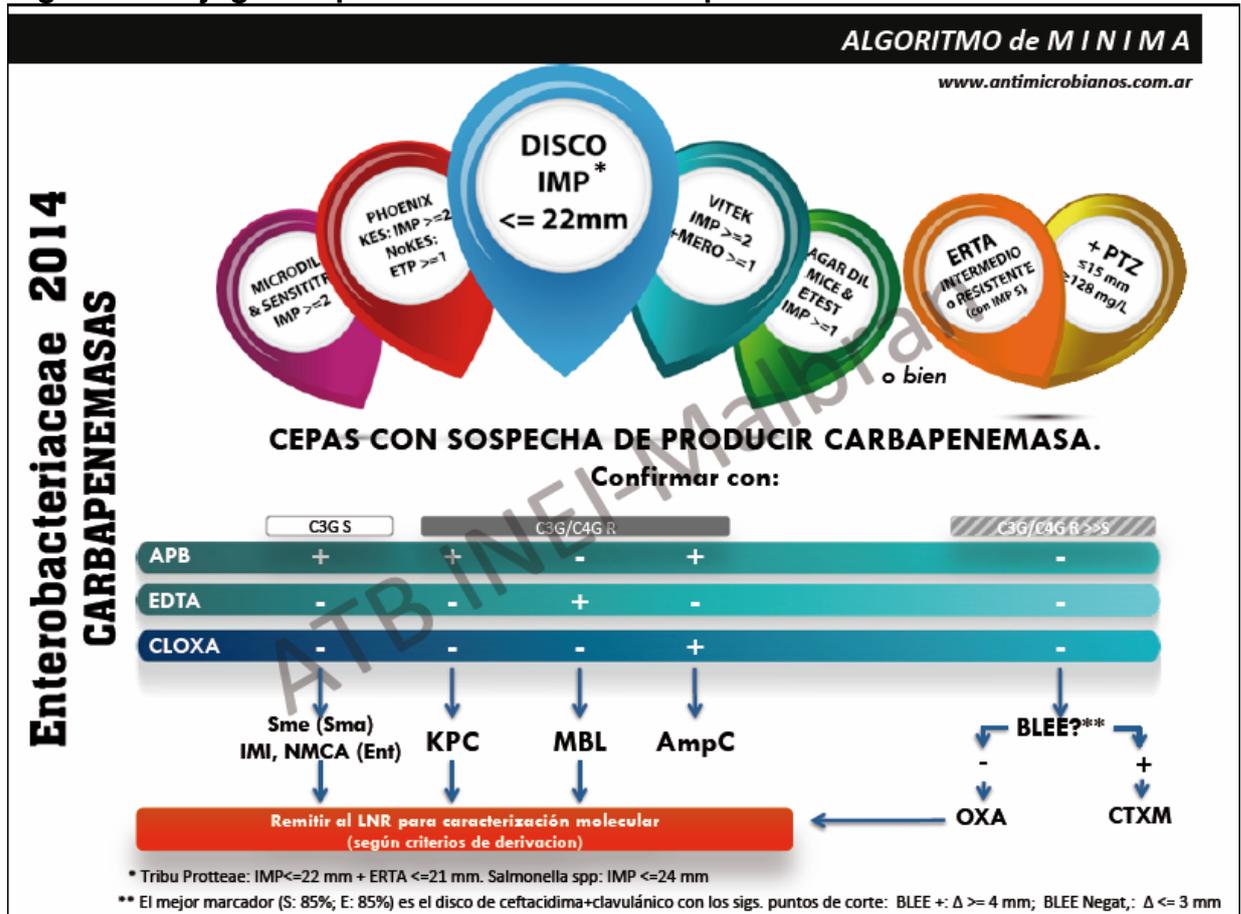


Figura 4: Esquema de colocación de los discos para *P. aeruginosa*

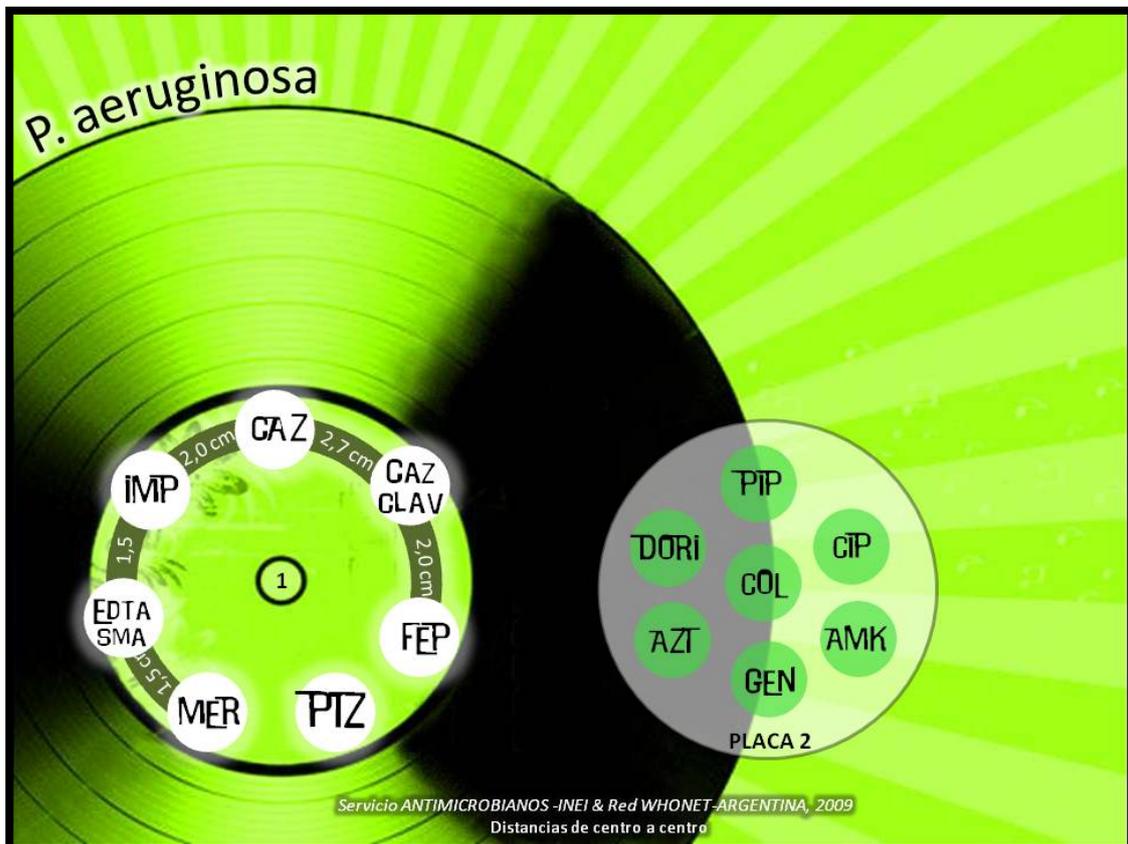


Figura 5: Esquema de colocación de los discos para *Acinetobacter spp*

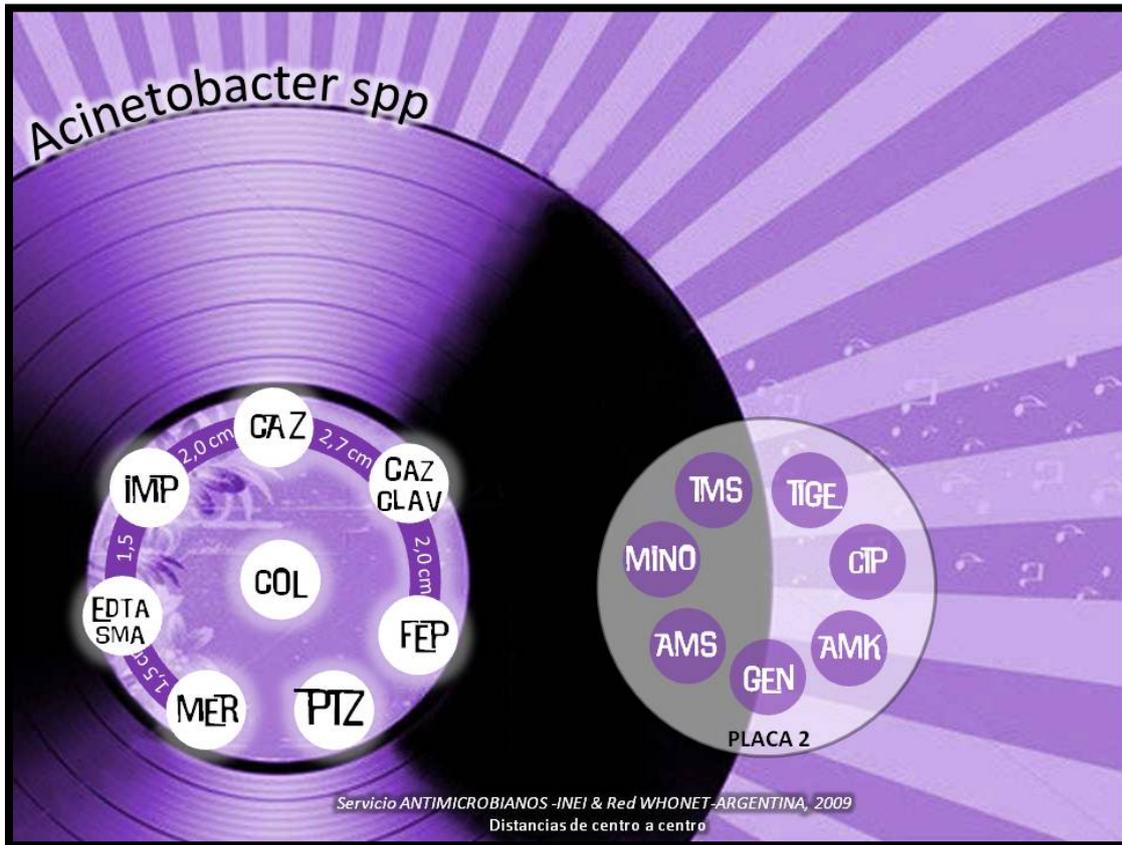
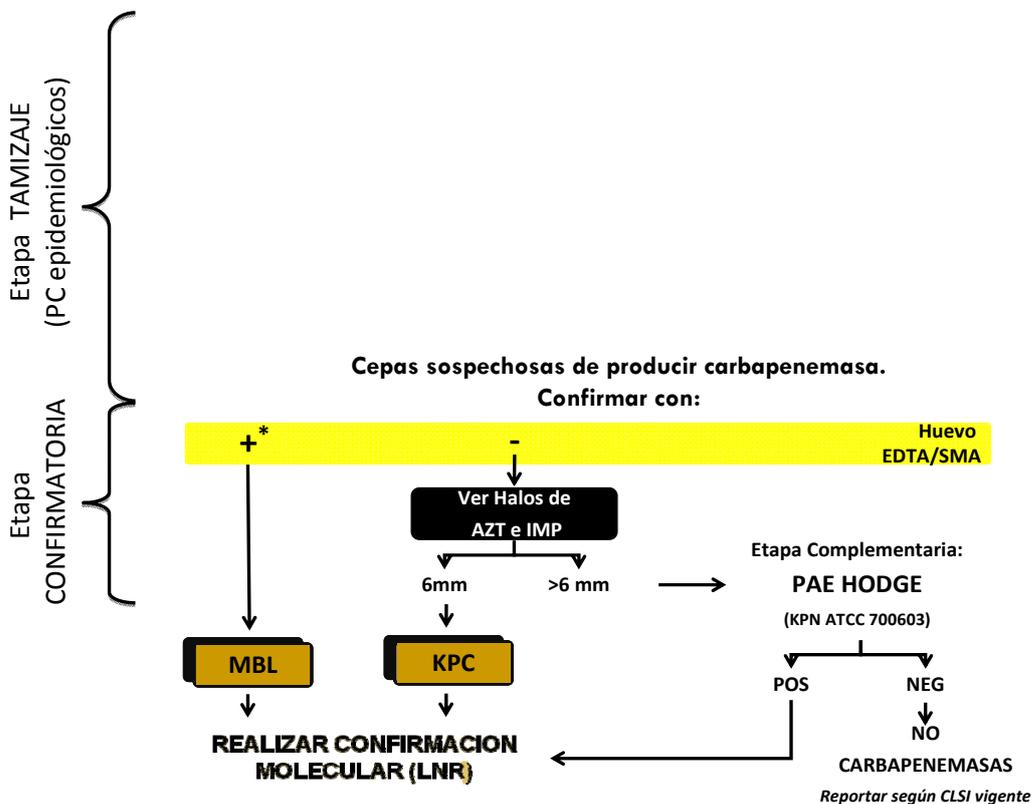


Figura 6: Flujoograma para detección de carbapenemasas en *Pseudomonas spp.*



P. aeruginosa - carbapenemasas. 2013

Gestión de Calidad en el Laboratorio de Bacteriología

Todos los laboratorios deberán tener acreditada la capacitación en gestión de calidad de laboratorios ya sea sobre la normativa ISO 15189, el curso de OPS para gestión de calidad de laboratorios o adquirir formación equivalente.

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.

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. Dos encuestas por año, seis microorganismos en total.

Control de Calidad Interno

Se proveerá a cada participante con 12 cepas de referencia. Las características de cada una y los correspondientes métodos de conservación se describen en la siguiente tabla.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

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: disminución de los halos de inhibición frente a carbapenemes cuando la concentración de Zn^{++} es excesiva. Halos grandes en el caso opuesto.- pH: disminución de los halos para aminoglucósidos cuando el pH del medio disminuye. Aumento de los halos cuando el pH es superior al establecido.- 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> 25922).- 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> 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, ticarcilina/ ácido clavulánico, cefoperazona/sulbactam y piperacilina/tazobactam. Discos con baja carga o degradados determinarán pequeñas zonas de inhibición frente a esta cepa.
<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> para los aminoglucósidos y tetraciclinas cuando varía el pH del MH).- Control negativo del <i>screening</i> de meticilino resistencia.
<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.- Control negativo del <i>screening</i> de resistencia a vancomicina y de alto nivel de resistencia a aminoglucósidos

OTROS CONTROLES DE CALIDAD INTERNO

Cepa	Factores que evalúa: interpretación
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299 (Cepa resistente a vancomicina y a altos niveles de aminoglucósidos)	<ul style="list-style-type: none"> Control positivo para la detección de la resistencia de alto nivel a aminoglucósidos Control positivo para la prueba de “screening” en agar para la detección de resistencia a vancomicina
<i>S. aureus</i> ATCC 43300 (Cepa meticilino-resistente, con CIM de oxacilina: 8 µg/ml)	<ul style="list-style-type: none"> Control positivo para la prueba de “screening” en agar de meticilino resistencia (6 mg/l de oxacilina en MH) Control de calidad del disco de cefoxitina para la detección de meticilino resistencia.
<i>E. faecalis</i> M 2110 Cepa productora de β-lactamasa (cepa de colección INEI-Malbrán)	<ul style="list-style-type: none"> Control positivo para la detección de β-lactamasas en enterococos.
<i>H. influenzae</i> ATCC 49247 Cepa resistente a ampicilina no productora de β-lactamasas.	<ul style="list-style-type: none"> Control de calidad de la prueba de difusión para <i>Haemophilus</i> utilizando HTM (utilizada para todas las drogas excepto algunas cefalosporinas).
<i>H. influenzae</i> ATCC 49766	<ul style="list-style-type: none"> Indicada para control de calidad de los discos de cefalosporinas no evaluadas con <i>H. influenzae</i> ATCC 49247
<i>H. influenzae</i> ATCC 10211 Cepa nutricionalmente exigente	<ul style="list-style-type: none"> Indicada para el control de calidad del medio de cultivo HTM (<i>Haemophilus</i> Test Media).
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619 Cepa con sensibilidad intermedia a penicilina.	<ul style="list-style-type: none"> Indicada para control de calidad de la prueba de sensibilidad.
Cepa 1, Enc 30 - PCCN <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	- Calidad de la prueba de sensibilidad de discos de EDTA/SMA. Puede dar “huevos” mas grande con MEROPENEM que con IMIPENEM. Ensayar una vez al mes
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 Cepa productora de BLEE	<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)

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 microorganismos correspondientes.

ACLARACIONES:

* En caso de querer testear los discos de **ácido fusídico**, ante la ausencia de puntos de corte para la cepa de *S.aureus* ATCC 25923 en las normas de CLSI y EUCAST, se sugiere emplear momentáneamente el rango de (28,5 - 34,5 mm), correspondiente a las Normas Francesas. Próximamente les enviaremos el rango obtenido en el Servicio de Antimicrobianos.

* Para controlar los discos de **Rifampicina de 30µg** sólo se dispone de Rangos permitidos establecidos en las Normas Francesas: considerar para *S.aureus* ATCC 25923 → 34-39 mm.

Drogas del protocolo					
	ECO 25922	SAU 25923	PAE 27853	ECO 35218	EFA 29212
Acido nalidixico	X				
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				
Colistín o Polimixina			X		
Doripenem	X	X	X		
Eritromicina		X			
Ertapenem	X				
Estreptomicina 300 µg					X
Fosfomicina (50)	X				
Gentamicina			X		
Gentamicina 120 µg					X
Imipenem			X		
Levofloxacina			X		
Linezolid		X			
Meropenem			X		
Minociclina	X				
Nitrofurantoina	X				
Oxacilina		X			
Pefloxacina	X				
Penicilina		X			
Piperacilina	X				
Piperacilina/tazobactama		X		X	
Rifampicina		X			
Teicoplanina		X			
Tetraciclina	X				
Tigeciclina	X	X	X		
Trimetoprima/sulfametoxazol		X			X
Vancomicina		X			
Total de discos	22 drogas	17 drogas	9 drogas	3 drogas	3drogas

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

Otras Drogas

	ECO 25922	SAU 25923	ECO 35218	KPN 700603
Cefotaxima/ac. Clavulanico	X			X
Ceftazidima/ac. Clavulanico	X			X

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 M2 A8 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 3 del documento M100S15 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 3 del documento M100S15 del CLSI (Límites aceptados para el control de calidad de la prueba de difusión).

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 A8 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* 29212 (EFA) y ensayar el disco de trimetoprima/sulfametoxazol. Interpretar los resultados con la tabla 3 del CLSI para el control de calidad de las pruebas de sensibilidad por difusión (rangos aceptables GEN vs PAE: 16-21mm; 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. Cabe aclarar que la forma correcta de medir el pH es a través de un pHímetro, la metodología sugerida es una aproximación que se encuentra en evaluación.

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 H₂O destilada y posteriormente esterilizada.

RECOMENDACIONES PARA LOS PARTICIPANTES DE LA RED WHONET-ARGENTINA (Noviembre 2003):

*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. Si fuera necesario, solicitar al Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - Servicio Antimicrobianos (INM) (FAX 4303-2812) las cepas y el instructivo de conservación correspondientes.

* 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.

*La edad del paciente es una información frecuentemente no disponible en el laboratorio, pero muchas veces se sabe a que 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
mas de 60 años	70 años

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

* Alerta sobre la aparición de mecanismos de resistencia inusuales en nuestro medio: Ej.: Resistencia a imipenem en enterobacterias, resistencia a vancomicina en *Staphylococcus spp.*, etc. Estos hallazgos deben ser comunicados a la brevedad. Es imprescindible la conservación de la cepa.

**Enterococcus spp*:

* Usar discos de alta carga de aminoglucósidos (Estreptomina 300ug, Gentamicina 120ug) para búsqueda de resistencia de alto nivel a estas drogas (este genero presenta resistencia natural de bajo nivel). Informar los resultados en los espacios correspondientes a aminoglucósidos de alta carga (GEH, STH).

* Confirmar las determinaciones de identificación y de sensibilidad cuando los aislamientos de *Enterococcus spp* resultan francamente sensibles a cefalotina y clindamicina (presentan normalmente resistencia natural) .

**Staphylococcus spp*:

* Es sumamente infrecuente el hallazgo de cepas de *S. aureus* con resistencia a vancomicina, (diámetros menores a 12 mm). Resultados que sugieran resistencia a

glicopéptidos en esta especie bacteriana merecen un estudio muy cuidadoso. Se sugiere repetir las determinaciones y enviar muestras al INEI.

* Confirmar la identificación de *Staphylococcus* spp francamente sensibles a ácido nalidíxico (este genero presenta resistencia natural).

* Resistencia a oxacilina: Controlar frecuentemente la estabilidad del disco. Cuando se observan colonias dentro del halo considerar diámetro menor. Aclarar en "Comentarios": OXA halo menor.

* Grupo *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp y *Serratia* spp.

* Ensayar la sensibilidad a cefoxitina y colistina para confirmar la identificación bacteriana (*Enterobacter* spp es resistente a cefoxitina y *Serratia* spp es resistente natural a colistina).

* Grupo *Proteus* spp, *Morganella* spp y *Providencia* spp

* Ensayar la sensibilidad a nitrofuranos y colistina para confirmar la identificación bacteriana (el grupo presenta resistencia natural).

* *Pseudomonas* spp

* No se recomienda ensayar cefotaxima, cloranfenicol, trimetoprima-sulfametoxazol o tetraciclina para *P. aeruginosa*. El tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa* con estas drogas es, frecuentemente inefectivo.

ENVIAR LOS DATOS AL FINALIZAR CADA MES

Comité coordinador

Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas
ANLIS "C. G. Malbran"
Buenos Aires

Actualización consenso de Informe restringido del antibiograma XI Taller Red WHONET-Argentina Octubre 2007

Comentarios Generales:

- 1) Informar todas las resistencias detectadas.
- 2) Aclarar en el informe clínico que el uso de rifampicina como monoterapia puede seleccionar mutantes resistentes intra-tratamiento.
- 3) Evitar el informe de rutina de fluoroquinolonas en pacientes pediátricos y embarazadas.
- 4) No existe evidencia que avale el uso de tigeciclina en pediatría.
- 5) El resultado de sensibilidad a cefalotina es extrapolable a todas las cefalosporinas de 1ª generación

Infecciones por *Staphylococcus* spp

♣ Aislamientos de hemocultivos, infecciones asociadas a catéter y de infecciones respiratorias

En cepas metililino-sensibles informar:

- Oxacilina, cefalotina, ampicilina/sulbactam, SXT, gentamicina*, rifampicina.
- En asociación con infecciones meningéas : ver aislamientos de LCR
- En caso de infecciones respiratorias sin bacteriemia asociada, en pacientes alérgicos a penicilina, informar clindamicina (de acuerdo al resultado de la prueba de inducción, D-Test) y eritromicina.

En cepas metililino-resistentes informar:

- Oxacilina (R), cefalotina (R), ampicilina/sulbactam (R), vancomicina, teicoplanina, SXT , gentamicina*, rifampicina
- En infecciones respiratorias graves informar linezolid.
- En caso de infecciones respiratorias sin bacteriemia asociada informar clindamicina (de acuerdo al resultado de la prueba de inducción, D-Test) y eritromicina.

(*) Aclarar: "No utilizar nunca como monoterapia"

♣ Aislamientos de piel y partes blandas

En cepas metililino-sensibles informar:

- Oxacilina, cefalotina, ampicilina/sulbactam, SXT, rifampicina, eritromicina, clindamicina (de acuerdo al resultado de la prueba de inducción, D-Test), minociclina, ácido fusídico.

En cepas metililino-resistentes informar:

- Oxacilina (R), cefalotina (R), ampicilina/sulbactam (R), vancomicina, teicoplanina, SXT, eritromicina, clindamicina (aclarar MLSi), minociclina/tigeciclina, ácido fusídico, rifampicina, linezolid.

♣ Aislamientos de materiales Osteoarticulares

En cepas metililino-sensibles informar:

- Oxacilina, cefalotina, ampicilina/sulbactam, SXT, rifampicina, clindamicina (de acuerdo al resultado de la prueba de inducción, D-Test), minociclina, ciprofloxacina (*)

En cepas meticilino-resistentes informar:

- Oxacilina (R), cefalotina (R), ampicilina/sulbactam (R), vancomicina, teicoplanina, SXT, ciprofloxacina (*), clindamicina (de acuerdo al resultado de la prueba de inducción, D-Test), minociclina, rifampicina, linezolid.

(*) Aclarar: "El uso como monodroga podría seleccionar resistencia intratratamiento".

♣ Aislamientos de LCR

En cepas meticilino-sensibles informar:

- Oxacilina (se interpreta como Sensible a cefotaxima y ceftriaxona previa confirmación de sensibilidad con CIM a las C3^aG), SXT, rifampicina,

En cepas meticilino-resistentes informar:

- Oxacilina (se interpreta como resistente a cefotaxima y ceftriaxona) SXT, rifampicina, vancomicina, linezolid.

♣ Aislamientos de Infecciones urinarias

S. aureus

En caso de aislamientos de orina considerar la posibilidad de bacteriemia asociada y por lo tanto evaluar la sensibilidad a rifampicina y gentamicina. Si la cepa fuera meticilino resistente ensayar además vancomicina.

En cepas meticilino-sensibles informar:

- Oxacilina, cefalotina, ampicilina/sulbactam, nitrofuranos, ciprofloxacina, gentamicina, SXT, rifampicina,

En cepas meticilino-resistentes informar:

- Oxacilina, ampicilina/sulbactam (R), cefalotina (R), nitrofuranos, ciprofloxacina, gentamicina, rifampicina, vancomicina. SXT

S. saprophyticus

Informar

- Oxacilina, cefalotina y ampicilina/sulbactam, (las tres drogas en base al resultado de FOX), nitrofuranos, SXT
- Ciprofloxacina

Infecciones por *Enterococcus* spp.

La sensibilidad a ampicilina no puede extrapolarse a sensibilidad a penicilina, si la resistencia.

♣1) Hemocultivos (Endocarditis), infecciones asociadas a catéter, LCR, punción ósea

- En cepas sensibles a ampicilina (β -lactamasa -) ampicilina, gentamicina y estreptomina (informar los aminoglucósidos como aptos ó no aptos para sinergia).
- En cepas resistentes a ampicilina ampicilina, vancomicina, gentamicina y estreptomina (informar los aminoglucósidos como aptos ó no aptos para sinergia)
- En cepas resistentes a vancomicina: linezolid, rifampicina, cloranfenicol.

♣2) Infecciones intra-abdominales

- Cepas sensibles a ampicilina:

- ampicilina
- b) Cepas resistentes a ampicilina:
vancomicina, teicoplanina, tigeciclina.
- c) Cepas resistentes a vancomicina:
linezolid, tigeciclina

♣3) Infecciones urinarias

En cepas sensibles ó resistentes a ampicilina

- a) ampicilina, nitrofuranos
b) ciprofloxacina (paciente adulto masculino)
c) Cepas resistentes a vancomicina: ampicilina, nitrofuranos, tetraciclinas, Linezolid

Infecciones por Enterobacterias

1) Informar cefepima acorde a resultado de cefalosporinas de tercera generación en los casos en que el aislamiento sea productor de BLEE.

2) En caso de necesitar informar cefepime en cepas BLEE (-), cefalosporinas de tercera generación sensibles, confirmar la sensibilidad a esta droga por la posibilidad de enzimas tipo Oxacilinasas con actividad cefepimasa (mecanismo sumamente inusual).

3) En caso de necesitar informar cefepime en cepas productoras de AMP-C derreprimida confirmar la sensibilidad a esta droga e informar con recomendación si se presenta como sensible (“posible falla de tratamiento”).

4) En productores de AmpC inducible sensibles a cefalosporinas de tercera generación informar con recomendación las C3°G (“posible falla de tratamiento”). Sería conveniente en este caso informar cefepime sensible previo ensayo de la droga.

5) En cepas sensibles a cefalosporinas de 3° no informar carbapenemes (excepto en enterobacterias productoras de AMP-C inducible).

6) En caso de confirmarse sensibilidad disminuida a fluoroquinolonas en infecciones severas (a través de la resistencia al ácido nalidíxico, CIM a ciprofloxacina u otro método), informar según se recomienda en la aclaración 6 del protocolo de enterobacterias hospitalarias: No informar el ácido nalidíxico y si se observa resistencia al NAL informar sensibilidad disminuida a CIP. Si se tratase de un aislamiento de *Salmonella* spp. extraintestinal **informar según los puntos de corte CLSI Tabla 2ª documento M100-S24.**

Si la sensibilidad disminuida se observa en aislamientos de infecciones urinarias bajas no complicadas el informe debe contener la siguiente aclaración: “Sensibilidad disminuida a CIP, probable éxito de tratamiento en infección urinaria baja no complicada de la comunidad”

7) Ertapenem sólo se debe informar en las siguientes infecciones de la comunidad para las que la droga está aprobada para tratamiento:

- Infección urinaria complicada
- Neumonía
- Infecciones de piel y partes blandas
- Infecciones intra-abdominales
- Infecciones genitales

♣ Infecciones Urinarias Ambulatorias

Categorizar el antibiograma: informar los ATB ensayados pero con esta consideración:

- a. ATB de primera elección (alternativas orales)
- b. ATB de uso restringido

Informar:

- a) Ampicilina, cefalosporinas de 1ª generación (C1ºG), nitrofuranos, SXT, ciprofloxacina con comentario ("se sugiere evitar su uso")
 - En caso de Resistencia a ampicilina: informar AMS
 - En caso de Resistencia Intermedia a C1ºG: informar "I" (intermedio) con aclaración "Considerar sensible en IU baja no complicada"
 - En caso de Resistencia a C1ºG: informar cefixima, cefuroxima acetil (oral, acorde al punto de corte correspondiente).

Informar:

- b) Gentamicina y ertapenem.

♣ Infecciones Sistémicas (bacteriemia, infección asociada a catéteres, infecciones respiratorias, infecciones osteoarticulares)

Informar

- A) Ampicilina en sepsis neonatal
- B) Cefotaxima/ceftriaxona/ceftazidima, piperacilina-tazobactam, gentamicina, amikacina, ciprofloxacina, cefepima (previa confirmación de sensibilidad).
- C) En cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación agregar al informe imipenem, meropenem.

♣ Infecciones de piel y partes blandas.

Informar

- A) Cefotaxima/ceftriaxona/ceftazidima, piperacilina-tazobactam, gentamicina, amikacina, ciprofloxacina, cefepima (previa confirmación de sensibilidad, ver comentarios generales).
No complicadas: agregar cefalosporinas de 1º generación, ampicilina-sulbactama
- B) en cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación agregar: imipenem, meropenem, ertapenem(*), tigeciclina.
(*) En cepas resistentes a cefalosporinas de 3ª generación aclarar: "Posible selección de resistencia intra-tratamiento"

♣ Infecciones intra-abdominales (solo peritonitis terciaria ó postquirúrgica)

Informar

- A) Cefotaxima/ceftriaxona/ceftazidima, piperacilina-tazobactam, gentamicina, amikacina, ciprofloxacina, cefepima (previa confirmación de sensibilidad, ver comentarios generales)
- B) en cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación agregar imipenem, meropenem, ertapenem(*), tigeciclina.
(*) En cepas resistentes a cefalosporinas de 3ª generación aclarar: "Posible selección de resistencia intra-tratamiento"

♣ Meningitis

- A) Cefotaxima/ceftriaxona/ceftazidima, gentamicina, amikacina.
- B) Frente a cepas resistentes a cefalosporinas de 3º: meropenem (imipenem sólo cuando hay sensibilidad disminuida a meropenem en ausencia de actividad carbapenemasa)

♣ Diarreas (Enteropatógenos)

□ *Shigella*:

Primera línea: ampicilina, SXT, fosfomicina, nitrofuranos (como furazolidona).

Segunda línea: C3°G, ciprofloxacina.

□ *Salmonella* (aislada de coprocultivos):

Informar en Grupo de riesgo para bacteriemias: neonatos, <1 año, mayores de 60 años, inmunocomprometidos y pacientes con prótesis (ver protocolo de trabajo de diarreas).
Ampicilina, SXT, ciprofloxacina, ceftriaxona.

Neumonía adquirida en la comunidad

S. pneumoniae

En cepas oxacilino-sensibles

Informar

- a) Cepa sensible a penicilina y aminopenicilinas.
- b) Macrólidos: solo cuando existe la información de que el paciente es alérgico a β -lactámicos

En cepas oxacilino-resistentes

Informar

- a) Cepa Resistente a oxacilina. Realizar CIM a penicilina (o amoxicilina) ya que el disco de oxacilina no tiene valor predictivo en el caso de neumonías.
"El tratamiento con altas dosis de penicilina o aminopenicilinas han demostrado éxito terapéutico en neumonías, tanto en estudios nacionales como internacionales"

H. influenzae

Realizar detección de β -lactamasa

- a) Si es positiva informar: "Cepa resistente a aminopenicilinas y sensible a β -lactámico con IBL. Tener en cuenta la posible aparición de cepas AMP R β -lactamasa negativa (muy inusual) en las cuales no son activas las penicilinas con IBL.
- b) Si se realiza difusión en HMT y es sensible a ampicilina, informar sólo ampicilina y los ATB resistentes. Si es resistente a ampicilina informar amoxicilina-ac. clavulánico

Moraxella catarrhalis

Realizar detección de β -lactamasa

Si es positiva informar: "Cepa resistente a aminopenicilinas y sensible a β -lactámico con IBL.