

Taller de CONSENSO Bacilos Gram Negativos No fermentadores

“Actualización de los criterios de ensayo, interpretación e informe de las Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en Bacilos Gram-Negativos No Fermentadores (BGNNF)”

***Pseudomonas aeruginosa: ¿Qué ensayar y que informar?
Detección de mecanismos de resistencias***

*Dra. Marcela Radice
Facultad de Farmacia y Bioquímica UBA-CONICET
mradice@ffyb.uba.ar*

22-nov.-2019




World Health Organization

2017

WHO PRIORITY PATHOGENS LIST FOR R&D OF NEW ANTIBIOTICS

Priority 1: CRITICAL[#]



Acinetobacter baumannii, carbapenem-resistant

Pseudomonas aeruginosa, carbapenem-resistant

*Enterobacteriaceae**, carbapenem-resistant, 3rd generation
cephalosporin-resistant

Priority 2: HIGH

Enterococcus faecium, vancomycin-resistant

Staphylococcus aureus, methicillin-resistant, vancomycin
intermediate and resistant

Pseudomonas aeruginosa

Frecuencia

- ≈10% frecuencia de aislamientos en pacientes internados
- ≈15% frecuencia de aislamientos en pacientes internados en UCI

Resistencia natural

- Aminopenicilinas (con y sin inhibidores de β -lactamasas)
 - Cefalosporinas de 1a y 2a generación y cefamicinas
 - Cefotaxima/ ceftriaxona
 - Ertapenem
 - Trimetoprima-sulfametoxazol
 - Tetraciclinas
 - Tigeciclina
 - Acido nalidíxico
 - Cloranfenicol
 - Nitrofurantoina
 - Macrólidos
 - Lincosamidas
- Baja permeabilidad de la membrana
 - Expresión de MexAB-OprM y MexXY-OprM
 - Beta-lactamasas cromosómicas
 - AmpC (PDC),
 - PoxB (OXA-50)
 - PIB (MBLS)

Pseudomonas aeruginosa: resistencia adquirida

Beta-lactámicos

- Sobreexpresión de AmpC (PIB?)
- Disminución en la permeabilidad
- Sobreexpresión de sistemas de eflujo
- Adquisición de β -lactamasas (clase A, B y D)
- *BLEA: PSE-1, PSE-4, tipo OXA
- *BLEE: PER-1, VEB-1/-2, OXA-14 a -19, OXA 31,
- TEM-4/-21/-24/-42, SHV-2a/-5/-12, **GES-1/-2**, **CTX-M-2**
-

Aminoglicósidos

- Modificación del sitio blanco
- impermeabilidad, eflujo
- EMAG

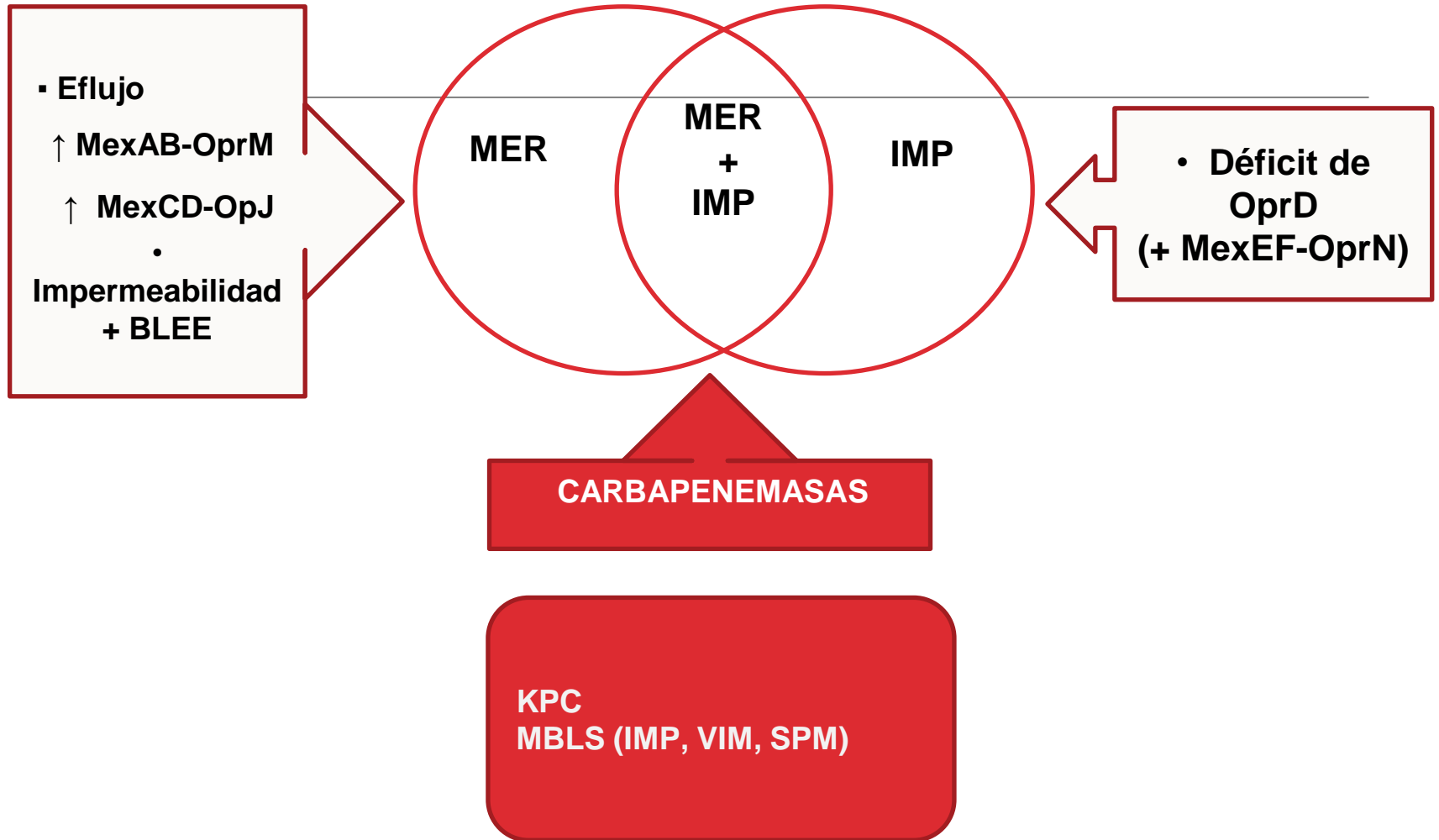
Fluorquinolonas

- Modificación del sitio blanco
- impermeabilidad, eflujo
- PMQR

BOMBAS de EFLUJO

- ⊙ **Sobre-expresión de MexAB-OprM:** extruye PIP, CAZ, FEP, MER, FQ, TET, CHO, TM, ERI
- ⊙ **Sobreexpresión de MexCD-OprJ:** extruye PIP, FEP, MER, FQ, TET, CHO, TM, ERI
- ⊙ **Expresión de MexEF-OprN** extruye FQ, CHO, TM
- ⊙ **Expresión de MexXY-OprN** extruye FQ, AMG, TET, ERI

Pseudomonas aeruginosa: resistencia adquirida





Prevalencia de metalo- β -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenemes en un Hospital Universitario de Buenos Aires

G. PAGNIEZ^{1,2}, M. RADICE^{2*}, A. CUIROLO², O. RODRÍGUEZ³, H. RODRÍGUEZ³, C. VAY³,
A. FAMIGLIETTI³, G. GUTKIND²

VIM-11 Pasterán F., Faccone D., Petroni A., Rapport M., Galas M., Vazquez M., Procopio A.
2005. AAC 49:474-5

Antimicrobial Agents
and Chemotherapy

Biochemical Characterization of Metallo- β -Lactamase VIM-11 from a *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strain

Patricia Marchiaro, Pablo E. Tomatis, María A. Mussi,
Fernando Pasteran, Alejandro M. Viale, Adriana S.
Limansky and Alejandro J. Vila
Antimicrob. Agents Chemother. 2008, 52(6):2250. DOI:

Emerg Infect Dis. Apr 2007; 13(4): 668–669.
doi: [10.3201/eid1304.061083](https://doi.org/10.3201/eid1304.061083)

PMCID: PMC2725967

VIM-2–producing *Pseudomonas putida*, Buenos Aires

[Marisa Almuzara](#),* [Marcela Radice](#),* [Natalia de Gárate](#),* [Alejandra Kossman](#),* [Arabela Cuirolo](#),* [Gisela Santella](#),*
[Angela Famiglietti](#),* [Gabriel Gutkind](#),[✉]* and [Varolos Vay](#)*

[Author information](#) ► [Article notes](#) ► [Copyright and License information](#) ►

MBLs tipo IMP

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Mar. 2010, p. 1381–1382
0066-4804/10/\$12.00 doi:10.1128/AAC.00399-10
Copyright © 2010, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 54, No. 3

Letter to the Editor
**Full Resistance and Decreased Susceptibility to Carbapenems in
IMP-13-Producing *Pseudomonas aeruginosa*
Isolates from an Outbreak^V**

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Nov. 2010, p. 4342–4343
0095-1137/10/\$12.00 doi:10.1128/JCM.00614-10
Copyright © 2010, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 48, No. 11

**Intercontinental Dissemination of IMP-13-Producing *Pseudomonas aeruginosa*
Belonging in Sequence Type 621^V**

**IMP-16 Andrés P., Petroni A., Fernández A., Tokumoto M., Galas M., Pasterán F.
2006. Congreso Sadebac 2006. Abstr. 16612.**

ARTÍCULO ESPECIAL

ISSN 0325-7541
Revista Argentina de Microbiología (2011) 43: 136-153

**Criterios de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de
sensibilidad a los antibióticos en los bacilos gram negativos no
fermentadores de importancia clínica: recomendaciones de la
Subcomisión de Antimicrobianos de la Sociedad Argentina de
Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas, Asociación
Argentina de Microbiología**

MARCELA RADICE¹, MARCELO MARÍN¹, MARTA GIOVANAKIS¹, CARLOS VAY², MARISA ALMUZARA²,
ADRIANA LIMANSKY², JOSÉ M. CASELLAS³, ANGELA FAMIGLIETTI¹, MIRTA QUINTEROS¹,
CARLOS BANTAR¹, MARCELO GALAS², JAIME KOVENSKY PUPKO¹, FEDERICO NICOLA¹,
FERNANDO PASTERÁN¹, ROLANDO SOLOAGA¹, GABRIEL GUTKIND^{1,3*}

[Infect Genet Evol.](#) 2012 Dec;12(8):2003-5. doi: 10.1016/j.meegid.2012.03.022. Epub 2012 Apr 5.

First clonal spread of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Buenos Aires, Argentina.

[Santella G.](#), [Cittadini R.](#), [Papalia M.](#), [Vera Ocampo C.](#), [Del Castillo M.](#), [Vaz C.](#), [Gutkind G.](#), [Radice M.](#)

PMID: 22484108 [PubMed - Indexed for MEDLINE]

J Antimicrob Chemother 2012

doi:10.1093/jac/dks032

Advance Access publication 20 February 2012

Detection of an international multiresistant clone belonging to sequence type 654 involved in the dissemination of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Argentina

Fernando Pasteran¹, Diego Faccone¹, Sonia Gomez¹, Sabrina De Bunder², Federico Spinelli^{3,4}, Melina Rapoport¹, Alejandro Petroni¹, Marcelo Galas¹ and Alejandra Corso^{1*} on behalf of the *Pseudomonas aeruginosa* KPC Group†

***Pseudomonas aeruginosa*: antimicrobianos a ensayar e informar por el método de difusión en agar**

Antimicrobiano	Ensayar	Informar
Piperacilina (PIP)	X	
Piperacilina/tazobactam (PTZ)	X	X
Ceftazidima (CAZ)	X	X
Ceftazidima/ácido clavulánico (CAC)	X	
Cefepime (FEP)	X	X
Aztreonam	X	X
Imipenem (IMP)	X	X
Meropenem (MER)	X	X
Amicacina (AKN)	X	X
Gentamicina (GEN)	X	X
Ciprofloxacina (CIP)	X	X
Agente quelante del Zn ²⁺	X	

Lineamientos del CLSI

Incubar 48 hs. en aislamientos provenientes de pacientes con EPOC o fibrosis quística

***Pseudomonas aeruginosa*: antimicrobianos a ensayar e informar por el método de difusión en agar**

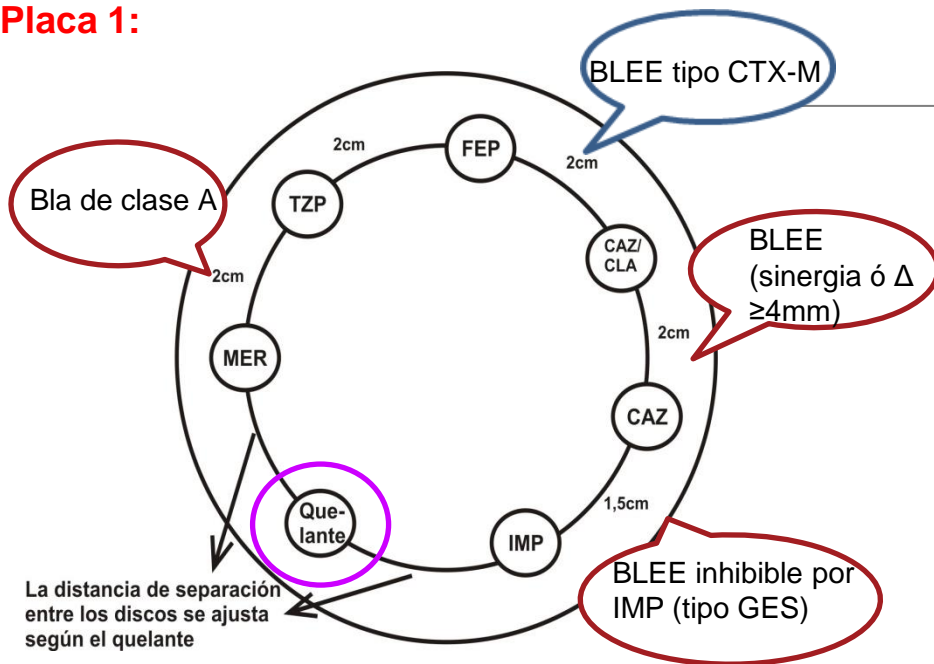
Antimicrobiano	Ensayar	Informar
Piperacilina (PIP)	X	
Piperacilina/tazobactam (PTZ)	X	X
Ceftazidima (CAZ)	X	X
Ceftazidima/ácido clavulánico (CAC)	X	
Cefepime (FEP)	X	X
Aztreonam	X	X
Imipenem (IMP)	X	X
Meropenem (MER)	X	X
Amicacina (AKN)	X	X
Gentamicina (GEN)	X	X
Ciprofloxacina (CIP)	X	X
Agente quelante del Zn ²⁺	X	
Ceftolozano/tazobactam (C/T)	X	X
Ceftazidima/avibactam (CZA)	X	X
Colistin	*	

Lineamientos del CLSI

Incubar 48 hs. en aislamientos provenientes de pacientes con EPOC o fibrosis quística

Pseudomonas aeruginosa: ubicación estratégica de los discos de antimicrobiano

Placa 1:

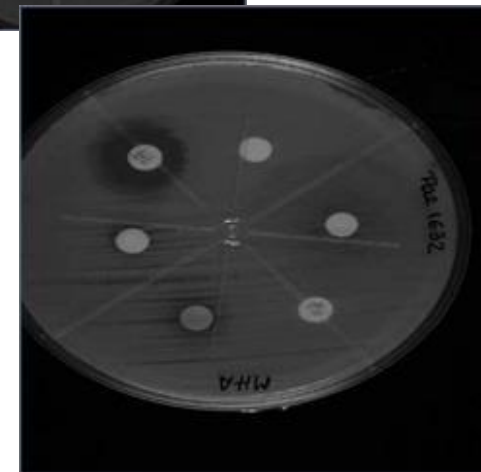
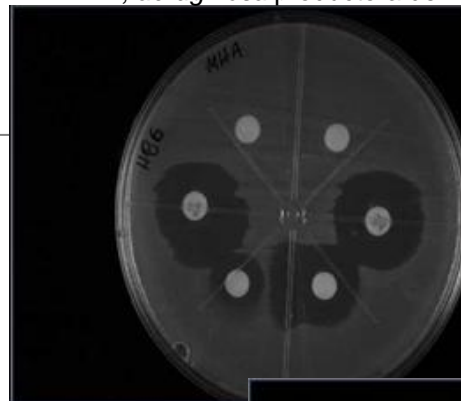


Nota: EDTA (1 μmol) como ADP (55 μmoles): 1 cm; EDTA (5 μmoles) a 1,5 cm. Los discos comerciales se deben colocar de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

CLSI 2019, IMI / MER: $S \geq 23$; $R \leq 19$

Placa 2: AMK, GEN, CIP, PIP, COL, AZT, CZA, C/T

P. aeruginosa productora de IMP-13



P. aeruginosa productora de VIM-2

APB no resulta útil

Mecanismos probables de resistencia a cefalosporinas de espectro extendido en *P. aeruginosa*: criterios de informe.

CAZ	FEP	Δ CAC- CAZ $\geq 4\text{mm}$	CAZ- IMP	PIP:S/ CAZ:R	FEP-CAC	Mecanismo Probable	Informe
I / R	I / R	-	-	-	-	Eflujo (ó BLEE) ¹	Según antibiograma
R	S / I	-	-	-	-	AmpC derreprimido (ó BLEE) ¹	Según antibiograma
I / R	S / I	-/+	(+)	-/+	-	BLEE tipo GES	
I / R	S / I	(+)	-	+ / -	-	BLEE tipo TEM ó SHV ó PER	R a todas las penicilinas, cefalosporinas y monobactams
I / R	S / I	- / +	- / +	(+)	-	BLEE tipo OXA	
S / I	R	+/-	-	-	-	OXA-1/31	
					+	BLEE tipo CTX-M	

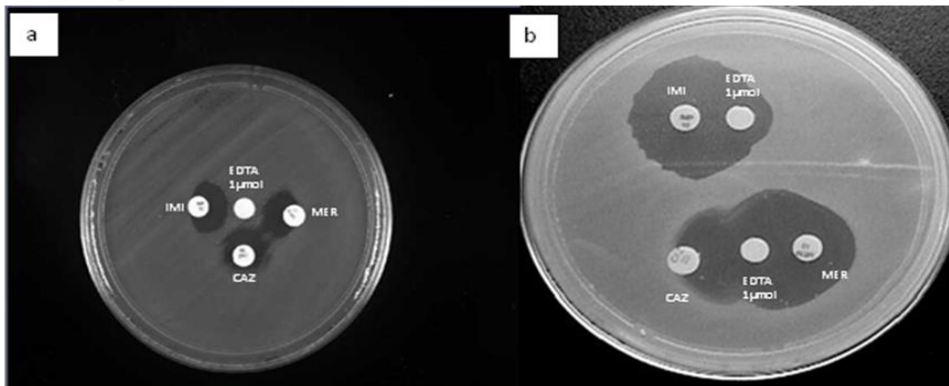
¹ No puede descartarse la presencia de BLEE

Mecanismos probables de resistencia a los carbapenemes en *P. aeruginosa*: criterios de informe

IMP	MER	Sinergia con		Mecanismo probable	Comentarios	Informe	
		EDTA	PTZ			IMI	MER
I/R	S/I	-	-	Déficit de OprD	No se ve afectada CAZ	R	¹ S/I
S	I/R	-	-	Eflujo (sobrexpresión MexAB-OprM, MexXY-OprM y/o MexCD-OprJ)	Resistencias acompañantes: PIP, CAZ, FEP, AZT, AG, CIP	S	I/R
I/R	R	-	-	Déficit de OprD + eflujo	Resistencias acompañantes: CIP, AZT, FEP, CAZ, PIP, PTZ	R	R
I/R	R			Déficit de OprD + PoxB	Sensible a CAZ, FEP, AZT	R	R
R	R	-	-	Carbapenemasas de clase D (tipo OXA)		R	R
R	R	-	+	Carbapenemasas de clase A (tipo KPC)	AZT: R	R	R
R	R	+	-	Carbapenemasas tipo MBL	Las MBLs no hidrolizan AZT AZT: S / IMI ó MER: R probable MBL.	R	R
I	I	+	-	Carbapenemasas tipo MBL (tipo IMP)	AZT:R pueden coexistir con otros mecanismos de resistencia: eflujo y/o BLEE	CIM MBL positiva	

Detección y caracterización de carbapenemasas: métodos microbiológicos

Ensayo de detección de MBLs usando EDTA



• *P. aeruginosa* productora de VIM-2, b) *P. aeruginosa* productora de IMP-13

E-test para detección de MBLs

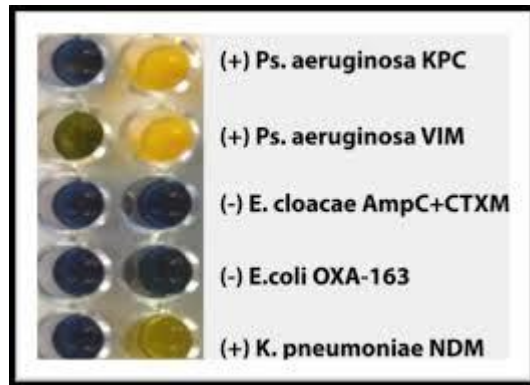


P. aeruginosa productora de IMP-15.



Detección y caracterización de carbapenemasas: métodos colorimétricos

Blue Carba



237 aislamientos no sensibles a carbapenemes
 149 *Enterobacteriaceae*, 66 *Pseudomonas* spp. y 23 *Acinetobacter* spp.

BCT performance for carbapenemase detection				
Carbapenemase	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)
All Classes (A+B+D)	82	99	99	77
Class A	100	99	97	100
Class B	98	99	98	99
Class D	46	99	95	78

Carba NP Test

Tables 3C and 3C-1
 Carba NP Test for Suspected Carbapenemase Production and Modifications When Using Interpretive Criteria Described in M100-S20 (January 2010).

120 Tables 3C and 3C-1. (Continued)

Figure 1. Interpretation of Color Reactions

M100, 27th ed.
 For Use With M02-A12 and M07-A10
 ©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Estudio prospectivo de resistencia a carbapenemes en *P. aeruginosa*

2 meses , 2018

Total: 438



CIM a MEM \leq IPM $> 1\mu\text{g/mL}$
o diámetro de halo ≤ 21 mm

69 (16 %)

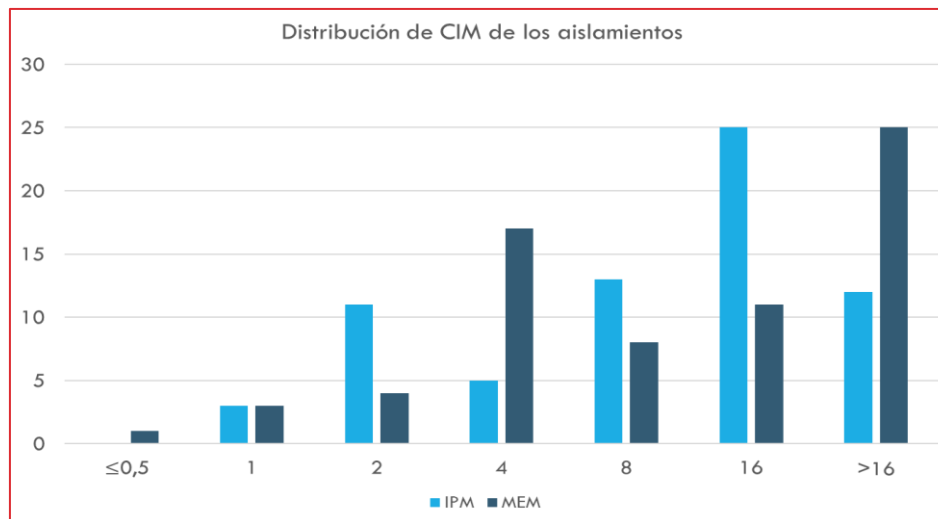
resistentes a carbapenemes



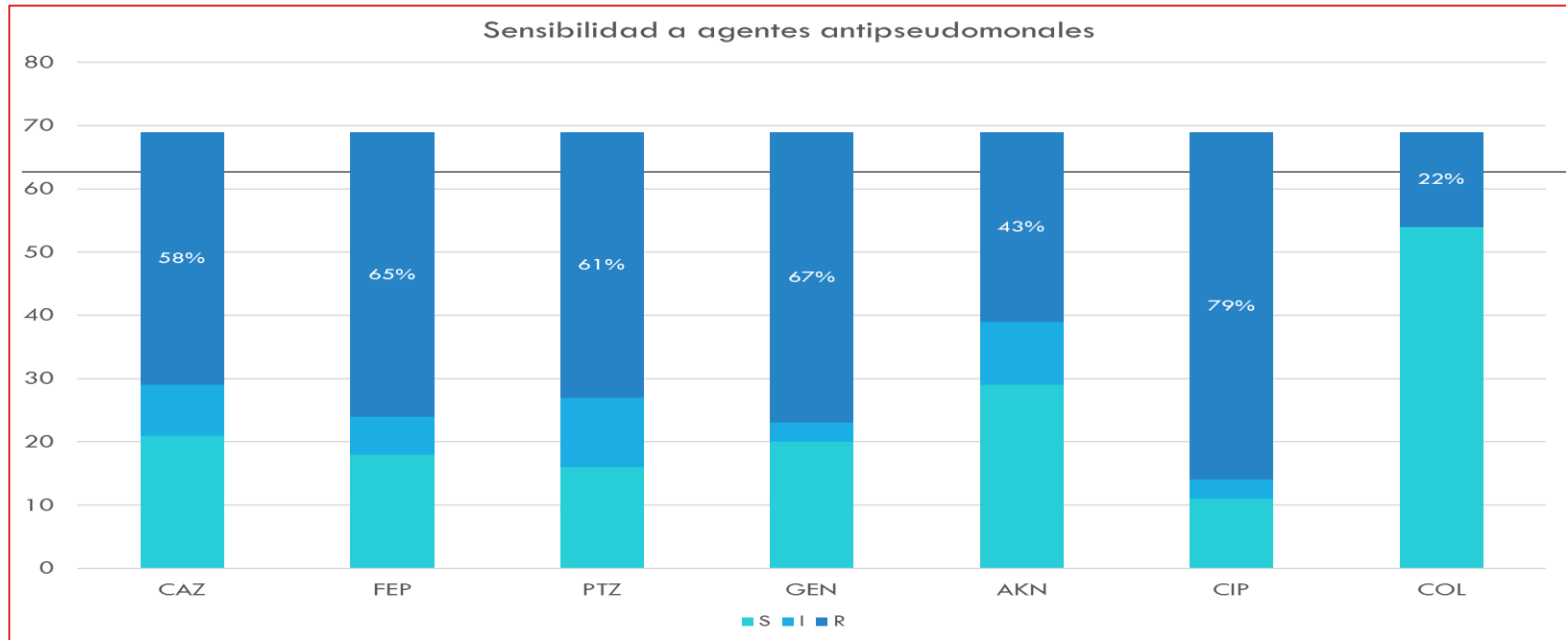
7/69 presentaron MBL (10%)

VIM-2 (3) VIM-11 (4)

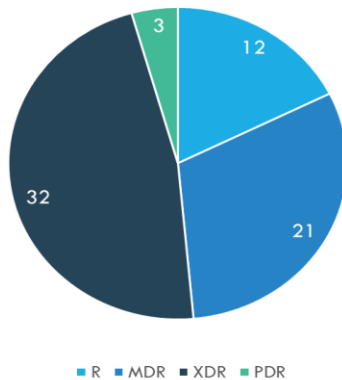
Sanatorio Otamendi
Hospital Penna
Hospital Británico
Hospital Alemán
Hospital de Quemados
Hospital Ferrer
Hospital de Clínicas
IDIM – LANARI
CEMIC
Hospital Santojanni
Hospital Gandulfo
Hospital Río Grande
Sanatorio Adventista del Plata
Hospital Iturraspe
Clínica Modelo de Santa Fe



Estudio prospectivo de resistencia a carbapenemes en *P. aeruginosa*



Distribución de niveles de resistencia



Presencia de MBL

- 1/12 R
- 3/21 MDR
- 2/32 XDR
- 1/3 PDR

Marcadores de resistencia detectados

Genes codificantes de MBLs:

*bla*_{VIM-2} y *bla*_{VIM-2}

PMQR: *qnrD* (5), *qnrS* (1),

AAG: *aac*-(6')-Ib (19)

mcr: No detectado



Control/Tracking Number: 2019-A-4806-MICROBE

Activity: Abstract

Current Date/Time: 2/12/2019 5:55:03 AM

Analysis of Resistance Markers and Virulence Factors in Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Recovered in a Prospective Study, in Argentina

Author Block: A. Elena¹, D. Cejas¹, L. Fernandez Canigia², P. Striebeck², F. Marquez³, M. Perrone⁴, M. Giovanakis⁵, F. Nicola⁶, F. Magariños⁷, M. V. Yernazian⁸, S. Longoni⁹, G. Posse¹⁰, G. Alcazar¹¹, F. Argaraña¹², R. Bucca¹³, M. Gallego¹⁴, A. De Paulis¹⁵, A. Famiglietti¹⁶, M. Nastro¹⁶, H. Rodriguez¹⁶, G. Gutkind¹, J. Di Conza¹, **M. Radice¹**; ¹Univ. de Buenos Aires - CONICET, Buenos Aires - CABA, Argentina, ²Hosp. Alemán, Buenos Aires - CABA, Argentina, ³Sanatorio Otamendi, Buenos Aires - CABA, Argentina, ⁴Hosp. Jose Maria Penna, Buenos Aires - CABA, Argentina, ⁵Hosp. Británico, Buenos Aires - CABA, Argentina, ⁶CEMIC, Buenos Aires - CABA, Argentina, ⁷Hosp. Luisa C. de Gandulfo, Buenos Aires, Argentina, ⁸Hosp. F. Santojanni, Buenos Aires - CABA, Argentina, ⁹Hosp. Regional Rio Grande, Tierra del Fuego, Argentina, ¹⁰Sanatorio Adventista del Plata, San Martin - Entre Rios, Argentina, ¹¹Clinica Modelo de Parana, Parana - Entre Rios, Argentina, ¹²Hosp. Jose Bernardo Iturraspe, Santa Fe - Santa Fe, Argentina, ¹³Hosp. Municipal de Quemados, Buenos Aires - CABA, Argentina, ¹⁴Hosp. Ferrer, Buenos Aires - CABA, Argentina, ¹⁵IDIM - Lanari, Buenos Aires - CABA, Argentina, ¹⁶Hosp. de Clinicas Jose de San Martin, Buenos Aires - CABA, Argentina