

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

*P. aeruginosa y otras Pseudomonas spp más frecuentes.*

*¿Qué ensayar y que informar?*

*Detección de mecanismos de resistencias. Epidemiología nacional y mecanismos de resistencia más prevalentes en nuestro país.*

Bioq. Melina Rapoport  
Servicio Antimicrobianos

Lab Nacional y Regional de Referencia en Resistencia a los Antimicrobianos

INEI ANLIS "Dr. C. G. Malbran"

[rapoport@anlis.gov.ar](mailto:rapoport@anlis.gov.ar)



### Priority 1: CRITICAL

- Acinetobacter baumannii*, carbapenem-resistant
- Pseudomonas aeruginosa*, carbapenem-resistant
- Enterobacteriaceae\*, carbapenem-resistant, 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin-resistant

### Priority 2: HIGH

- Enterococcus faecium*, vancomycin-resistant
- Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant, vancomycin intermediate and resistant
- Helicobacter pylori*, clarithromycin-resistant
- Campylobacter*, fluoroquinolone-resistant
- Salmonella* spp., fluoroquinolone-resistant
- Neisseria gonorrhoeae*, 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin-resistant, fluoroquinolone-resistant

### Priority 3: MEDIUM

- Streptococcus pneumoniae*, penicillin-non-susceptible
- Haemophilus influenzae*, ampicillin-resistant
- Legionella pneumophila* serogroup 4, fluoroquinolone-resistant

LISTA DE PATÓGENOS PRIORITARIOS

#1. *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacteria carbapenem R*

Incluye 12 familias de las bacterias más peligrosas

2002: *P. aeruginosa* VIM+  
2018: *P. aeruginosa* PDR...

*Pseudomonas aeruginosa*

Perfil de sensibilidad a los antimicrobianos 2010-2017

Programa Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET - ARGENTINA



Danze Diego<sup>3</sup>, Pasteran Fernando<sup>1</sup>, Menocal Alejandra<sup>1</sup>, Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET-Argentina<sup>2</sup>, Corso Alejandra<sup>1</sup>.

mail: diegodanze@hotmail.com. web: www.antimicrobianos.com.ar

<sup>1</sup>Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia (LNR), INEI ANLIS-"Dr. Carlos G. Malbrán", Argentina.

<sup>2</sup> RED WHONET ARGENTINA. <sup>3</sup> Residencia en Microbiología Clínica INEI ANLIS-"Dr. Carlos G. Malbrán".



Red WHONET – ARGENTINA 2017

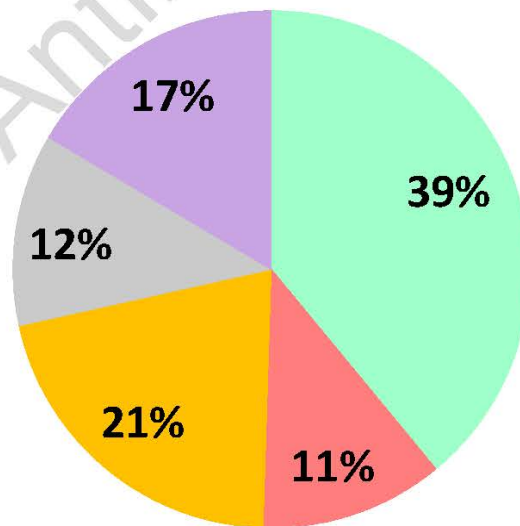
Distribución de Instituciones participantes

Total: 89



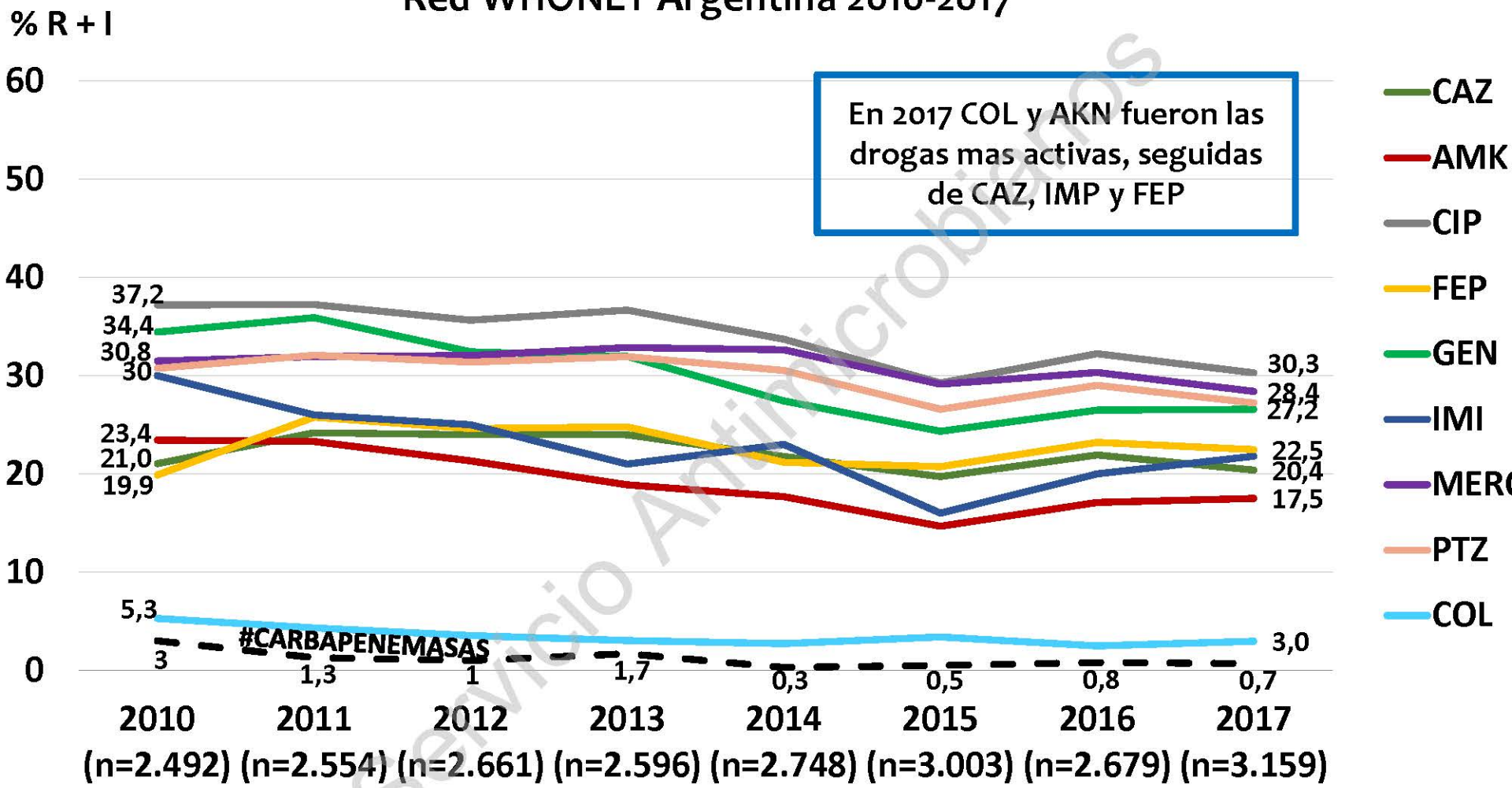
*P. aeruginosa*

Distribución de muestras clínicas (n=21.892)



- Materiales respiratorios
- Sangre
- Orina
- Piel y Partes Blandas
- Otros

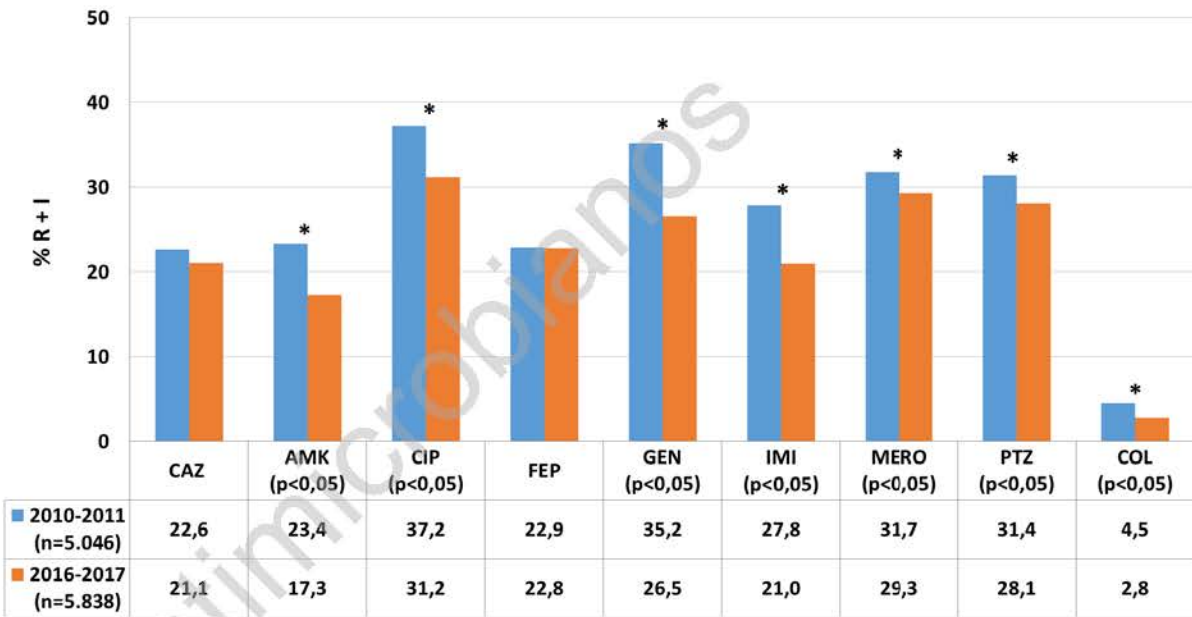
## Inf. de origen hospitalario (n=21.892) Red WHONET Argentina 2010-2017



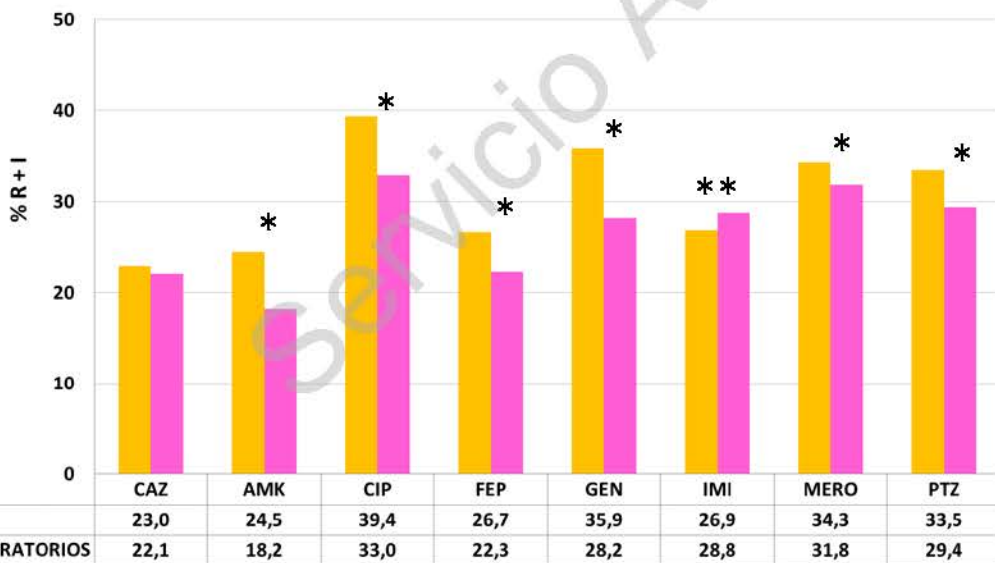
# La resistencia a carbapenemes se encuentra asociada primariamente a mecanismos no enzimáticos, tales como, impermeabilidad y/o eflujo. La resistencia mediada por carbapenemasas continúa aún siendo infrecuente, con valores <1%.

**Disminución %NS (\*)  
 2010-2011 vs 2016-2017:  
 AMK, CIP, GEN, IMI, MEM,  
 PTZ, COL**

*Pseudomonas aeruginosa*  
 Comparación de períodos 2010-2011 (n=5.046) vs 2016-2017 (n=5.838)



Comparación de % NS ORINA vs SANGRE+RESP  
 Período 2010-2017



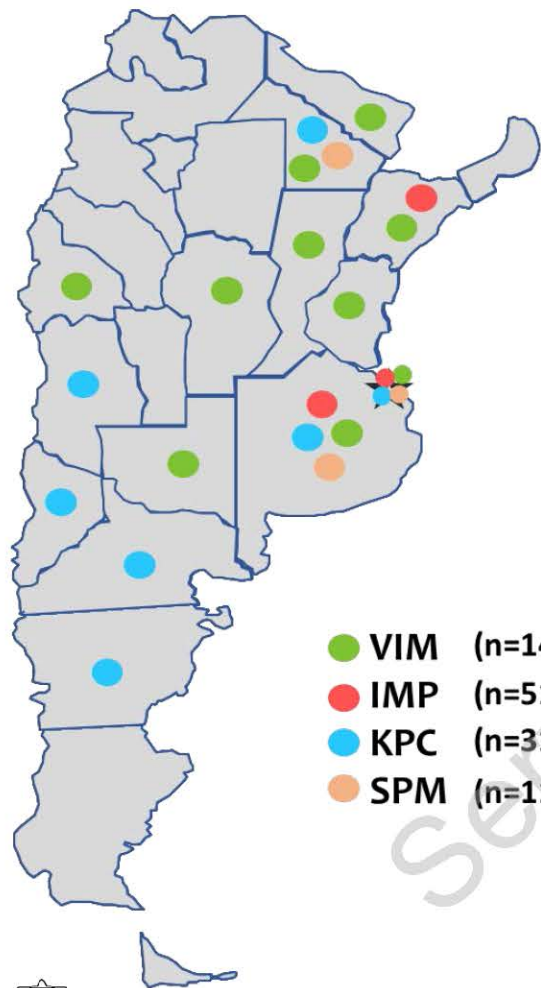
**No se encontró diferencia en el %NS entre muestras de SANGRE Y RESPIRATORIAS**

**Mayor %NS (\*) en ORINA (p<0,05):  
 AMK, CIP, FEP, GEN, MEM y PTZ**

**Mayor %NS (\*\*) en SANGRE Y RESPIRATORIOS (p<0,05): IMI**

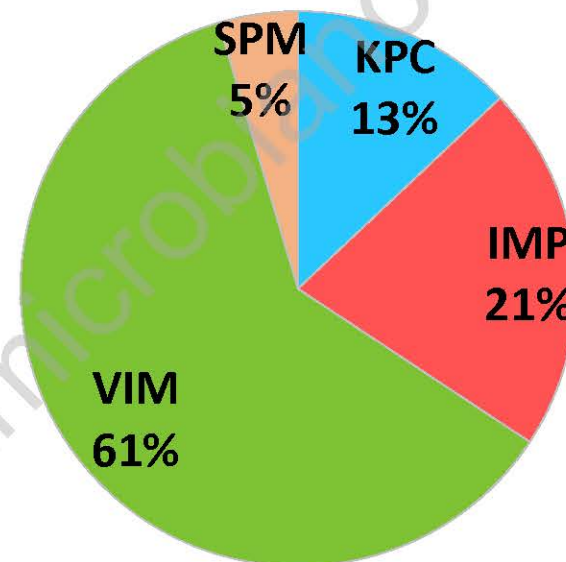
*Pseudomonas aeruginosa*. Perfil de sensibilidad a los antimicrobianos 2010-2017  
Programa Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET  
– ARGENTINA

Danze D. y col. Poster JU013 en CAM 2019



- VIM (n=146)
- IMP (n=51)
- KPC (n=31)
- SPM (n=11)

*Pseudomonas aeruginosa* productoras de carbapenemasas derivadas al LNR durante el período 2010-2017 (n=239)



En el año 2018 se confirmaron 4 *P. aeruginosa* NDM+

Aislamientos de orina de paxs adultos de CABA y prov. BA

En los 4 aislamientos IMP y MER 06mm, sinergia con EDTA+  
En 3/4 presencia de metilasa tipo rmtD  
Los 4 solo sensibles a COL

# *P. aeruginosa* vs grupo *P putida* MBL+

Arg*	PAE	PPU		PAE	PPU
2004	0.02%	9%		0.5%	59%
2005	0.3%	12%		10%	67%
2006	0.3%	77%			
2007	0.5%	68%			
2008	0.8%	61%		0.3%	14%
2009	0.9%	52%			

**MBL de *P. putida* → 100% VIM-2**  
**Aislamientos no relacionados genéticamente.**  
**Rol como reservorio de genes de resistencia!**

\* cepas confirmadas en LMR/MP cepas base WHONET-Argentina

Pastoran F., Jomadas Argentinas de Microbiología  
 Rosario, Santa Fe, 2008 Poster 305  
 Juan C., JAC 2010; Yonsei med K., MEDI 2009



FEP: R y  
ΔCAZ-FEP:  
≥ 4mm o ≥ 2dils  
(reportar CAZ  
según CIM)



OXA-1/31  
(CEFEPIMASA)

1.4 ptes / 10000 egresos

1.4  
x10.000

CAZ: NS (R,I)  
C/T: ≥ 48 ug/ml y  
Huevo IMP-CAZ  
(reportar R a todos  
los b-lactámicos)



GES-1  
VEB/PER  
(IMP-CAZ+)

0.21 ptes / 10000 egresos

0.21  
x10.000

FEP: NS (R,I) y  
ΔCAC-CAZ: ≥ 4  
o CEE-AMC/AMS+  
(reportar R a todos  
los b-lactámicos)



CTX-M  
(CEE-AMC+)

<.01 ptes /  
10000 egresos

<.01  
x10.000



# MECANISMOS de RESISTENCIA CARBAPENEMES

↓oprD

101

IMI: I, R (↓NIVEL)  
MERO: S, I

↑MexAB-oprM

102

IMI: S

MERO: I, R (↓NIVEL)

↓oprD+↑PoxB

103

IMI: I, R (↓NIVEL)  
MERO: RR (↑NIVEL)  
AZT, C4G o C3G: S

↓oprD+↑MexAB-oprM

104

IMI: I, R (↓NIVEL)  
MERO: I, R, RR (↑)  
AZT>C4G>C3G: NS

CARBAPENEMASAS ADQUIRIDAS

105

S, I, R  
RR

# CARRAPENEMASAS

infección cada 10.000 egresos



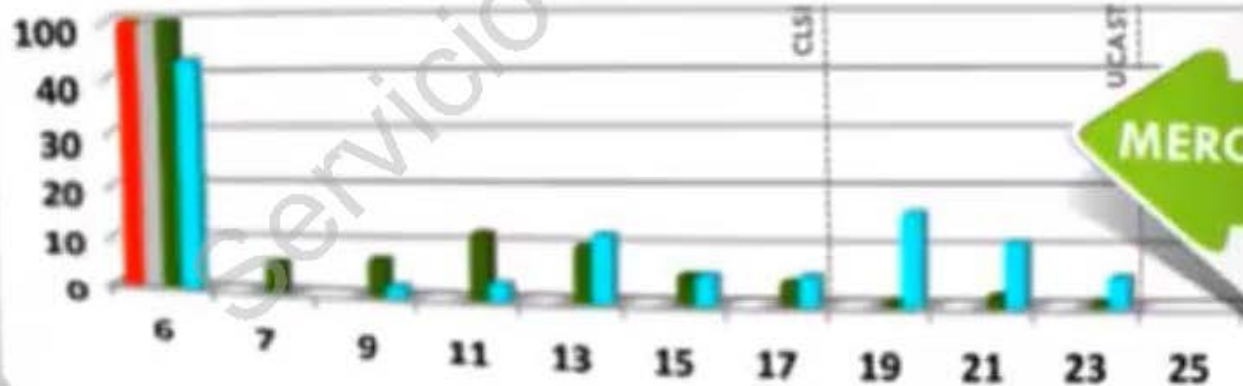
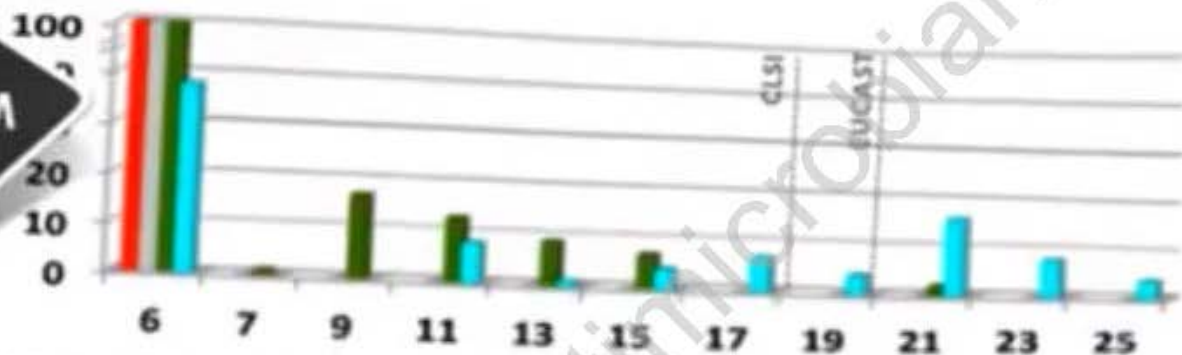
# Cabapenemasas en PAE

Met. difusión, aislamientos clínicos de Argentina (n=445)

**KPC**  
(n=119)

**VIM**  
(192)

**IMP**  
(77)



# CARBAPENEMAS PREVALENTES EN PAE



**Alto nivel de R a imipenem  
Alto nivel de R a aztreonam  
Ausencia sinergia EDTA/SMA**



**MER  $\leq$  23 mm e IMP variable  
Aztreonam  $>$  10 mm  
Sinergia EDTA/SMA**



## ***Pseudomonas chlororaphis***

R natural al AZT +  
blaVIM-2 (adquirida)

Faccione D, ICAAC 2013



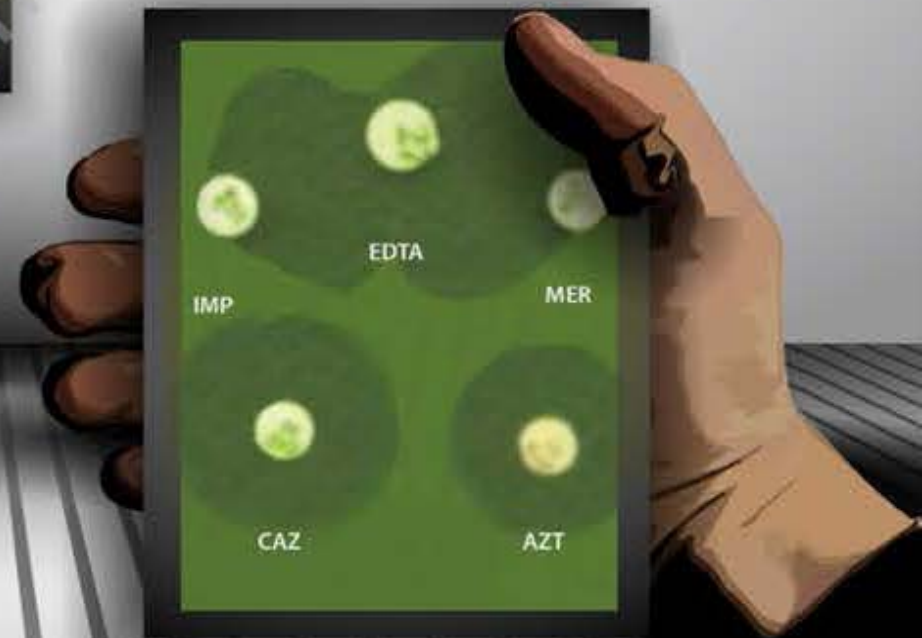
KPG

MBL

servicio de microbiología



**POM-1**  
**Ps. otitidis metaloenzima**  
Constitutiva. S a PIP, C3G y AZT  
Efecto INOCULO sobre CBP  
Thaller MC., AAC 2011 y DMID 2012



KPG

MBL

# Frente a atipias en los perfiles de R, asegurar la identidad a nivel de especie

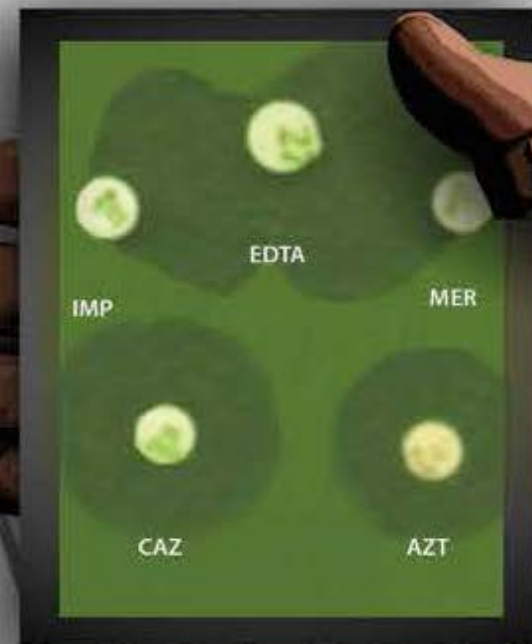


## PAM-1 *Ps. alcaligenes* metaloenzima

Constitutiva.

72% homologia con POM-1

Suzuki M., JAC 2014



KPG

MBL

servicio@microbianos.com

# AmpC



Los discos de cloxa deben tener la carga apropiada (3000 ug) para PAE (En Arg.: DCM-Brit de Britania o CLOXA-HI de Rosco)



PAE (n = 198)	CNPd	BCT
KPC y Clase A	100%	100%
MBL: VIM, IMP	95%	96%

REPORTAR EL POSITIVO  
ESTUDIAR EL NEGATIVO

**MÉTODOS COLORIMÉTRICOS RÁPIDOS**

*Pseudomonas* spp.

	MHT	THT
Clase A	100%	100%
Clase B	35%	96%

NDM

THT

M.E.

MERO como sustrato

# Modificación del mCIM para *P. aeruginosa* (CLSI 2018)

1. Realizar una suspensión de cultivo fresco en caldo TSA (**ansada de 10µl para *P. aeruginosa***).
2. Agregar un disco de MER
3. Incubar a 35°C durante 4hs
4. Remover con cuidado el disco de MER
5. Colocar el disco en una placa de agar MH previamente inoculada con 0,5 de McFarland de *E. coli* ATCC 25922
6. Incubar en aerobiosis a 35°C durante 18-20hs
7. Leer la zona de inhibición alrededor del disco de MER

## mCIM Interpretación de resultados:

- Zona de inhibición **6-15mm** o 16 a 18mm con colonias dentro del halo:  
**Carbapenemasa positiva**
- Zona de inhibición **≥19mm**: **Carbapenemasa negativa**
- Zona de inhibición 16-18mm (sin cdh):  
**Indeterminado**



No tener en cuenta el anillo de crecimiento alrededor del disco de MER

# EVALUACION DEL METODO DE INACTIVACION DE CARBAPENEMES MODIFICADO (mCIM) PARA LA DETECCION DE MICROORGANISMOS PRODUCTORES DE CARBAPENEMESAS.

Lucero C. y col. Presentación Oral. VIII Congreso SADEBAC 2018.



<i>P. AERUGINOSA</i>	POSITIVOS	NEGATIVOS	S	E	VPP	VPN
PC	25	0	100	100	100	100
No-PC	0	28				

- mCIM detectó todas las PAE productoras CBP
- No hubo resultados indeterminados en este género
- Solo una PAE productora de VIM presentó un hola de 18mm con CI



## PROTOCOLO WHONET v2019

### *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas* spp.

[www.antimicrobianos.com.ar/whonet](http://www.antimicrobianos.com.ar/whonet)

Antibiograma mínimo 2 placas

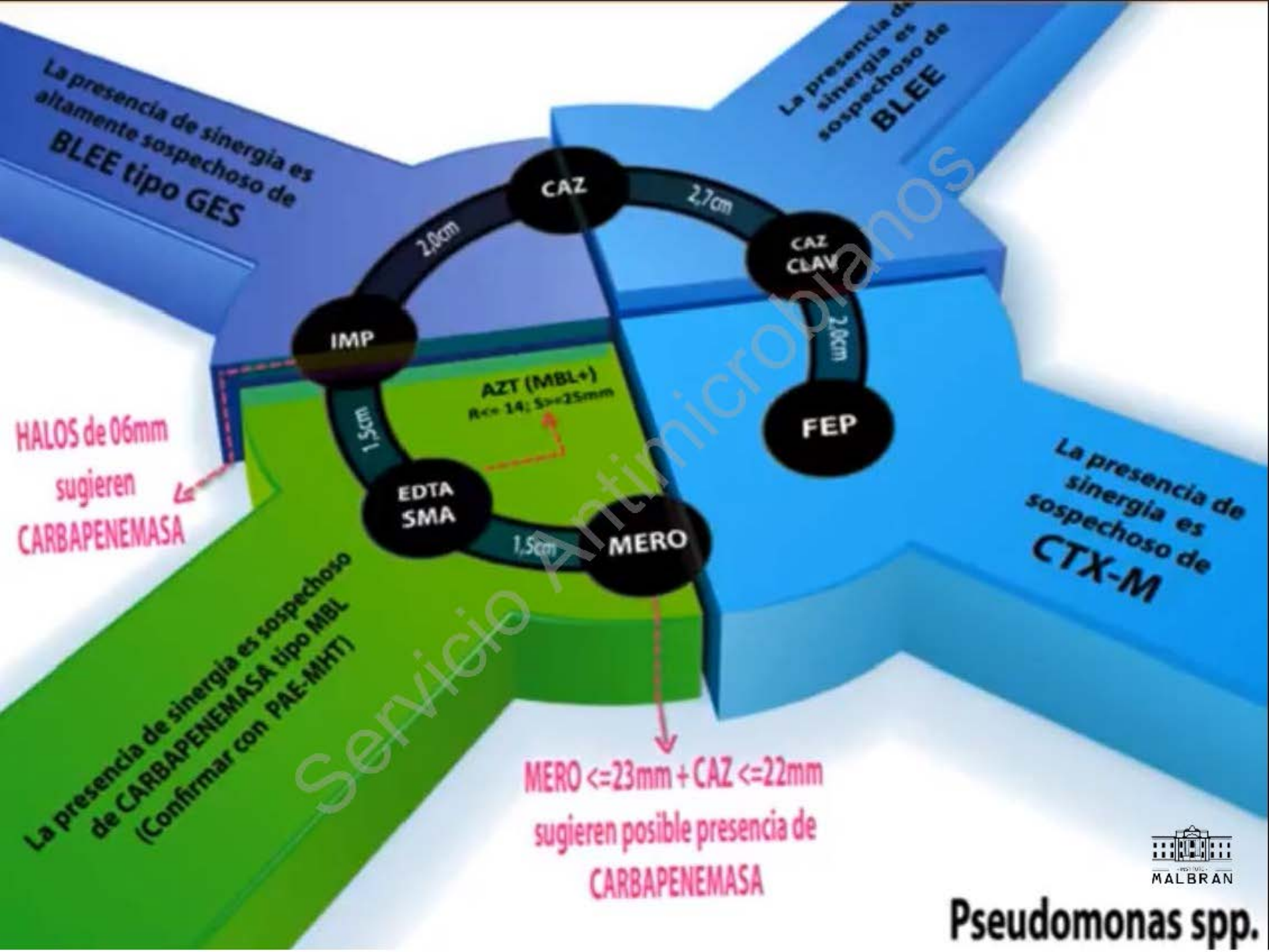
IMIPENEM  
 MEROPENEM  
 CEFTACIDIMA  
 CEFTACIDIMA/CLAVULANICO  
 CEFEPIME  
 PIPERACILINA/TAZOBACTAM  
 EDTA

GENTAMICINA  
 AMICACINA  
 CIPROFLOXACINA  
 AZTREONAM  
**CEFTACIDIMA/AVIBACTAM (10/4)\***  
**CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM**  
 COLISTIN (Optativo)\*\*

\***Disco de CZA:** Se recomienda el uso de los discos con carga **10/4ug** con una modificación de los puntos de corte de EUCAST con el agregado de un Área de Incertidumbre Técnica (AIT) para 15 y 16mm. Halos de 15 y 16 mm deben ser confirmados por un método que determine CIM. No se recomienda el uso de los discos con la carga utilizada por CLSI (30/20ug) para *P. aeruginosa*.

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

\*\***Disco de colistín optativo con fines de identificación o como screening.** En infecciones por cepas MDR si el equipo médico decide utilizar COL como tratamiento, los laboratorios deben evaluar la actividad de polipeptidos por el método de dilución (microdilución o macrodilución) o algún método alternativo aceptado.



# Nuevas drogas y su actividad frente a *P. aeruginosa*

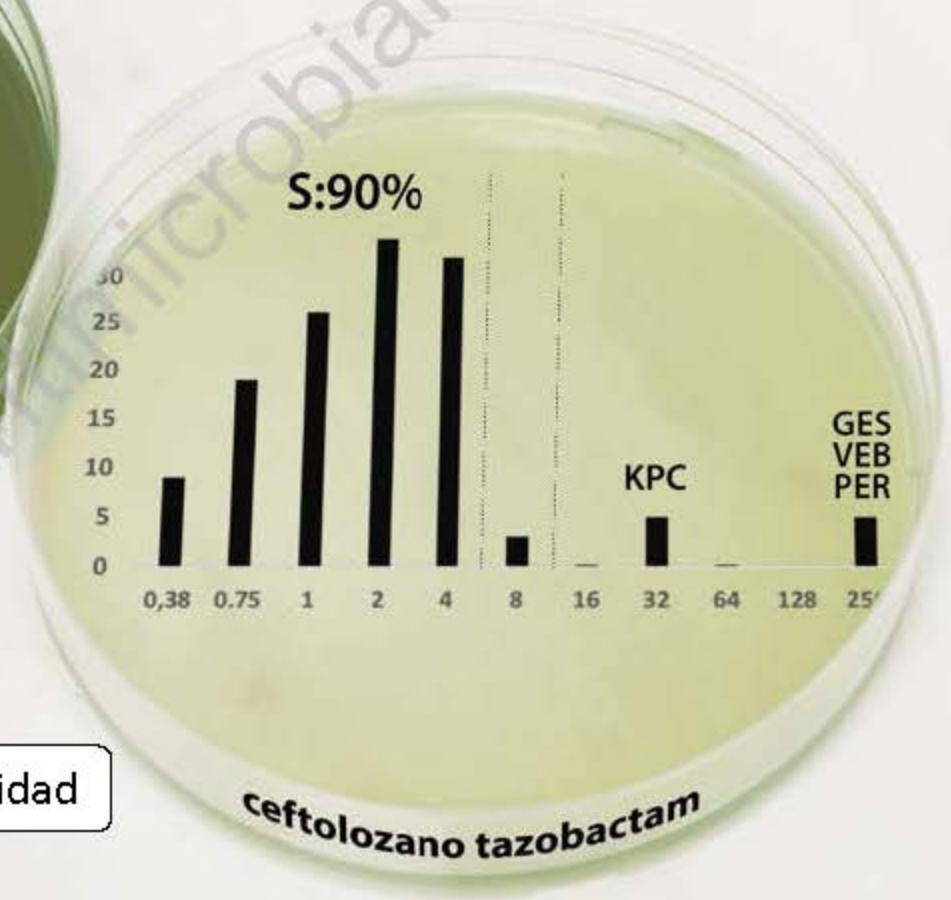
MECANISMO	CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM	CEFTACIDIMA/AVIBACTAM
PDC	S	S
Déficit OprD	S	S
Hiper MexAB	S	S/R
OXA-1 (cefepimasa)	S	S/R
BLEE: GES-1	R	S
BLEE: PER	R	R
KPC	S/R	S
MBL	R	R
PDC mutantes	R	R

C/T puede administrarse en altas dosis e IC y cubrir CIMes de hasta 16ug/ml

Posible sinergia con FOSFOMICINA

# P. aeruginosa XDR

DISTRIBUCION CIM NUEVOS BETA-LACTAMICOS



AZTREONAM/AVIBACTAM: 44.4% sensibilidad

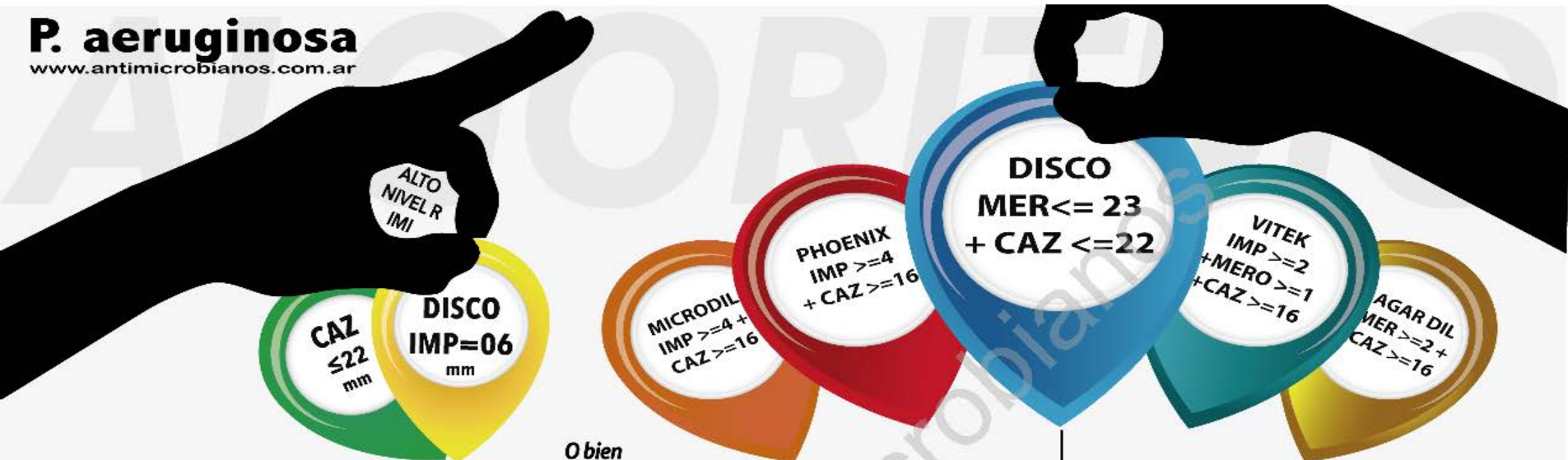
Método C/T: tiras de gradiente; CZA: dilución en agar. CLSI Ed. 2018  
Se excluyen cepas productoras de carbapenemasas Clase B (MBLs)





# P. aeruginosa

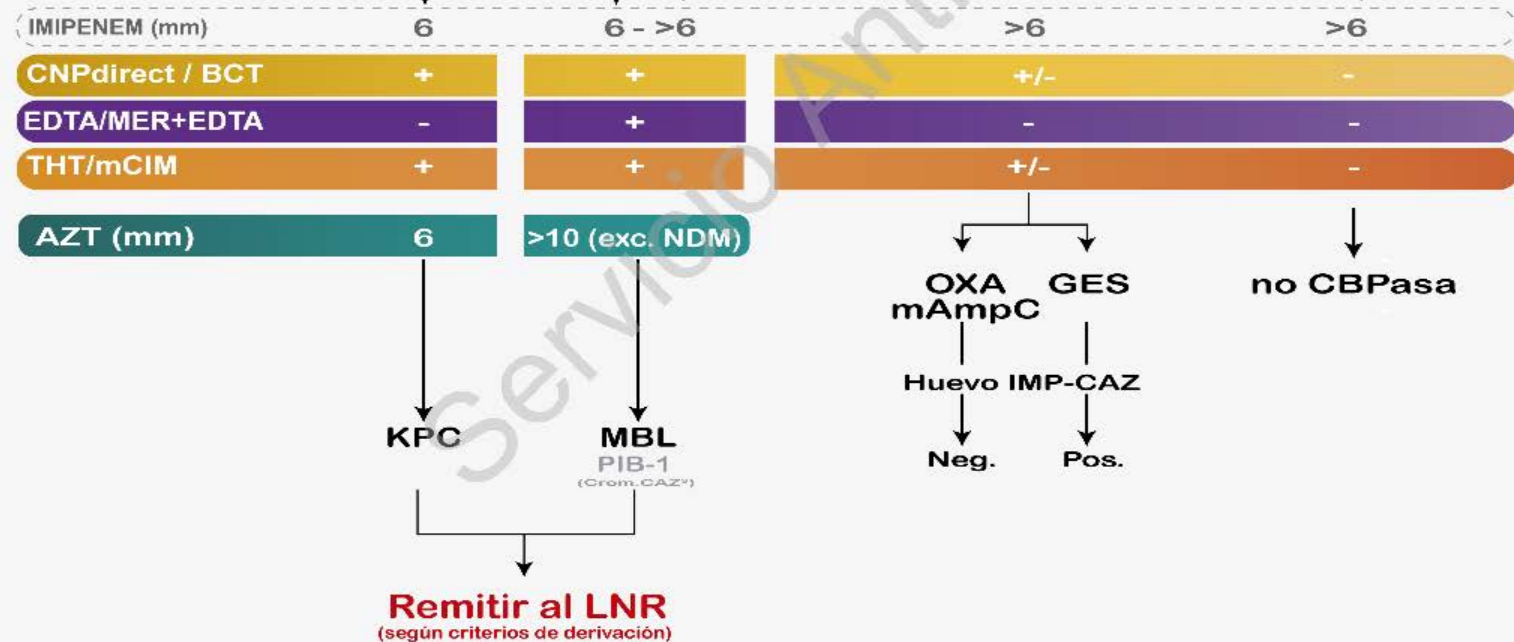
www.antimicrobianos.com.ar



O bien

CEPA PRODUCTORA de CARBAPENEMASA

CEPA SOSPECHOSA de CARBAPENEMASA



# P. aeruginosa 2019



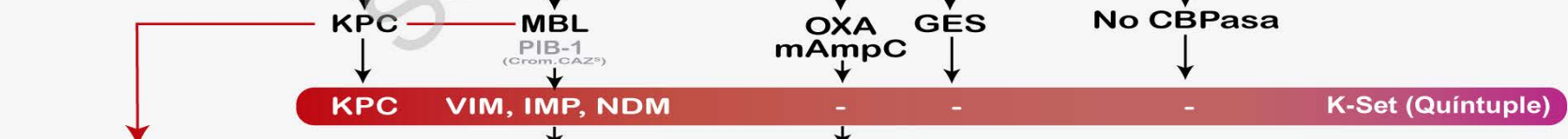
O bien

CEPA PRODUCTORA de CARBAPENEMASA

CEPA SOSPECHOSA de CARBAPENEMASA

IMIPENEM (mm)	6	6 - >6	>6	>6
Colorimétricos	+	+	+/-	-
EDTA/MER+EDTA	-	+	-	-
THT/mCIM	+	+	+/-	-
AZT (mm)	6	>10 (exc. NDM)		
C/T	I o R	RR	R	S
CZA	S>R	RR	R	S

C/T: CEFTOLOZANO+TAZOBACTAM  
CZA: CEFTAZIDIMA+AVIBACTAM



Si negativo: probable SPM

Si OXA-48 u OXA-163 +

Remitir al LNR (según criterios de derivación)

DIFUSION POR DISCOS  
 BUSQUEDA DE  
 CARBAPENEMASAS Y BLEE:  
**CEFTOLOZANO+  
 TAZOBACTAM (C/T)**  
**CEFTA/AVI (CZA)**  
**e IMPENEM**

# PSEUDOMONAS AERUGINOSA

IMPENEM

CLASE A o B



**Cepas productora  
 de carbapenemasa**

EDTA-

**KPC**

CIM: 6-32 mg/L  
 C/T  
 30/10 µg  
 Zi: 15-21 mm

CIM: ≤8 mg/L  
 CZA  
 10/4 µg  
 Zi: ≥15 mm

EDTA+

**MBL**

CIM: ≥48 mg/L  
 C/T  
 30/10 µg  
 Zi: ≤10 mm

CIM: >8 mg/L  
 CZA  
 10/4 µg  
 Zi: ≤14 mm

PCR

**GES**  
 carbapenemasa

CIM: ≥48 mg/L  
 C/T  
 30/10 µg  
 Zi: ≤10 mm

CIM: ≤8 mg/L  
 CZA  
 10/4 µg  
 Zi: ≥15 mm

6 mm

CIM equivalente: ≤32  
 CIM equivalente: ≤64

CIM: ≤4 mg/L  
 C/T  
 30/10 µg  
 Zi: ≥21 mm

**CEPA NO PRODUCTORA  
 DE CARBAPENEMASA**

BUSCAR OG3  
 (CEFEPIMASA)

CZA<sup>S,R</sup>

≥7mm

CIM: > 8 mg/L  
 CZA  
 10/4 µg  
 Zi: ≤14 mm

**MBL**

EDTA+

**mAmpC**

PTZS

**OXA**  
 14/539

PTZR

**PER**

BLEE

EDTA-

CIM: ≥16 mg/L  
 C/T  
 30/10 µg  
 Zi: ≤16 mm

CIM: ≤8 mg/L  
 CZA  
 10/4 µg  
 Zi: ≥15 mm

**GES**  
 BLEE  
CZA 20% co-producción de rifampi

IMP-CAZ



ALTA R    BAJA R    S    AIT

Zi: zonas de inhibición  
 AIT: area incertumbre técnica

Cepas con Zi y/o CIM de C/T y CZA no contemplados:  
 realizar ensayo colorimétrico (BCT) y sinergia con EDTA



1916 - 2016

- INSTITUTO -

**MALBRAN**

200 AÑOS DE INDEPENDENCIA  
100 AÑOS DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

**MUCHAS GRACIAS**

[www.antimicrobianos.com.ar](http://www.antimicrobianos.com.ar)