



INFORME ENCUESTA N°29

País	Institución
BOLIVIA	INLASA
CHILE	Instituto de Salud Pública
COLOMBIA	Instituto Nacional de Salud
COSTA RICA	INCIENSA
CUBA	Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK)
ECUADOR	Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública
EL SALVADOR	Laboratorio Nacional de Referencia
GUATEMALA	Laboratorio Nacional de Salud
HONDURAS	Laboratorio Nacional de Vigilancia
MEXICO	Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológico
NICARAGUA	Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia (CNDR)
PANAMA	Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública (LCRSP)
PARAGUAY	Laboratorio Central de Salud Pública
PERU	Instituto Nacional de Salud
REP. DOMINICANA	Laboratorio Nacional de Salud Pública "Dr. Defilló"
URUGUAY	Laboratorios de Salud Pública
VENEZUELA	Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"



País	Responsable
BOLIVIA	Erika Ruiz
CHILE	Alda Fernández
COLOMBIA	Carolina Duarte Valderrama
COSTA RICA	Grettel Chanto, Antonieta Jimenez
CUBA	María Teresa Illinat
ECUADOR	Fernando Villavicencio
EL SALVADOR	María José Luna Boza
GUATEMALA	Carmen Mazariegos
HONDURAS	Roque López
MEXICO	Norma Angélica Montes Colima
NICARAGUA	Lissette Sandoval y Julissa Avila
PANAMA	Ruben Ramos Castro
PARAGUAY	Nancy Melgarejo Touchet
PERU	Maritza Mayta Barrios
R. DOMINICANA	Reyna Ovalles, Loida González
URUGUAY	Mariana Lopez, Leticia Caiata, Ana Otero
VENEZUELA	Nuris Salgado



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS (INEI)

ANLIS – “Dr. Carlos G. Malbrán”
Dirección INEI: Viviana Molina
Buenos Aires, Argentina

DIRECCION DEL PROGRAMA LATINOAMERICANO

Alejandra Corso
Servicio Antimicrobianos

COORDINACION

Paula Gagetti, Paola Ceriana
Servicio Antimicrobianos

REFERENCIA EN IDENTIFICACION BACTERIANA

Mónica Prieto
Servicio Bacteriología Especial

REFERENCIA EN ANTIMICROBIANOS

Alejandra Corso, Fernando Pasterán

Apoyo Profesional:

Celeste Lucero, Melina Rapoport, Ezequiel Albornoz, Lucía Cipolla
Servicio Antimicrobianos

Apoyo Informático:

Ezequiel Tuduri,
Servicio Antimicrobianos

Comité Científico Técnico

Adriana De Paulis, Laura Errecalde, Liliana Fernandez Canigia, Carlos Vay, Horacio Lopardo.
Argentina

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD/Organización Mundial de la Salud

Washington, USA

Programa Regional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos
Departamento de Enfermedades Transmisibles y Análisis de Salud

www.paho.org/Resistencia



Estimados colegas:

Aprovechamos esta oportunidad para agradecerles su participación en la **Encuesta Nro. 29** del **“Programa Latinoamericano de Control de Calidad en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos”**.

En la Encuesta Nro. 29 han participado 16 de los 17 miembros integrantes del Programa de Control de Calidad.

En el siguiente documento encontrará el informe del análisis de resultados de las cepas **OPS 281 a OPS 290**:

- OPS 281** *Vibrio vulnificus*
- OPS 282** *Klebsiella aerogenes*
- OPS 283** *Streptococcus suis*
- OPS 284** *Comamonas kerstersii*
- OPS 285** *Staphylococcus aureus*
- OPS 286** *Pseudomonas putida*
- OPS 287** *Ralstonia incidiosa*
- OPS 288** *Acinetobacter baumannii*

OPS 289 *Klebsiella oxytoca*

OPS 290 *Klebsiella pneumoniae*

En esta encuesta también se enviaron las siguientes cepas de referencia:

***Escherichia coli* ATCC 35218**

***Escherichia coli* ATCC 25922**

***Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

***Staphylococcus aureus* ATCC 29213**

***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

***Enterococcus faecalis* ATCC 29212**

***Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603**

La Tipificación Bacteriana se evaluó según si la cepa pertenecía a alguna de estas categorías: (i) género y especie correctos o (ii) género correcto sin especificar la especie o (iii) género correcto y especie incorrecta o (iv) género incorrecto.

En lo que respecta a las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos por difusión, las respuestas se evaluaron en base a dos criterios: (i) interpretación de acuerdo a los puntos de corte fijados en los documentos M100 S32nd Edition de la CLSI 2022 o interpretación clínica según corresponda y (ii) tamaño de la zona de inhibición.

A partir de la Encuesta 12 se tomó el siguiente criterio de evaluación para la INTERPRETACIÓN de las pruebas de sensibilidad: en el caso de que el rango de aceptabilidad de las zonas de inhibición incluya las tres categorías de interpretación (S, I o R) solo se considerará como correcta la interpretación según el método de referencia de CIM.

Para categorizar los errores de interpretación en las pruebas de sensibilidad hemos recurrido a las definiciones de consenso mundial ampliamente utilizadas en la literatura: error “minor”, “major” o “very major”. A continuación detallamos la definición de los errores que se pueden cometer en la categoría de interpretación de la pruebas de sensibilidad:

*Error “minor” (Mi): discrepancia que involucra la categoría de interpretación intermedia (sensible por intermedio, resistente por intermedio, intermedio por sensible o intermedio por resistente).

*Error “major” (Ma): clasificación como resistente de una cepa sensible (falsa resistencia).

*Error “very major” (Vma): clasificación como sensible de una cepa resistente (falsa sensibilidad).

En las primeras Encuestas (No. 1 a No. 7) el indicador de calidad de la Tipificación Bacteriana que se tuvo en cuenta fue la **“Tipificación Bacteriana Aceptable”**: **“género y especie correctas” + “género correcto, con omisión de especie”**. De la Encuesta Nro. 7 y hasta la 12 incluimos otro indicador de calidad: **“Tipificación Bacteriana Ideal”** que tiene en cuenta **sólo** aquellas respuestas con **“género y especie correctos”**.

A partir de la Encuesta 13, sólo se analiza “Tipificación Bacteriana Ideal”, primero porque es lo deseable para un Laboratorios Nacional de Referencia y segundo porque consideramos que los laboratorios participantes del Programa ya están suficientemente capacitados para aceptar este desafío.

Los **rangos de referencia** para las zonas de inhibición se han fijado como la media en mm de las zonas obtenidas después de 25-30 determinaciones, ± 2 desviaciones estándar (SD), con una desviación mínima de ± 3 mm del valor promedio (rango mínimo: 7 mm). En el caso de las cepas ATCC, se utilizan como siempre los rangos establecidos por CLSI y en el caso de cepas sin halo (6 mm) de inhibición en el total de las determinaciones no se utiliza rango.

A partir de la Encuesta 20 (2013) hemos incorporado dos nuevos indicadores de calidad: **“Mecanismo de resistencia inferido”** y **“Tiempo de demora en la respuesta”**. La evolución de este último indicador se ha analizado a partir de la Encuesta 15 y la del indicador “Mecanismo de resistencia inferido” a partir de la Encuesta 20.

Lo ideal para un Laboratorio Nacional de Referencia sería que alcance una concordancia con el LRR:

- (i) Tipificación bacteriana $\geq 90\%$**
- (ii) Interpretación de las pruebas de sensibilidad $\geq 90\%$**
- (iii) Concordancia con los rangos de zonas de inhibición aceptables $\geq 80\%$**
- (iv) Mecanismo de resistencia inferido $\geq 90\%$**
- (v) Tiempo de demora en la respuesta ≤ 30 días**

Queríamos comentarles que debido a la excelente performance que fueron obteniendo la gran mayoría de los LNRs a través del tiempo, nos parece oportuno incluir un sexto **Indicador de Calidad**, que esté acorde a los desafíos que se nos plantean a los LNRs en RAM de ReLAVRA. Este nuevo indicador se pondrá en vigencia a partir de la **Encuesta N° 30 de 2023** y es la concordancia con el LRR en la **Detección de genes de resistencia de relevancia clínica**. Para comenzar se evaluará la detección de los principales genes de relevancia clínica, como p. ej *blaKPC*, *blaNDM*, *blaOXA-48like*, *blaVIM*, *blaIMP*, *blaCTXM*, *vanA*, *vanB*, *vanC*, *mcr-1* *mecA*, entre otros. Para más detalles referirse a la página 90 de Comentarios generales.

Tengan presente que aquellos laboratorios que no dispongan de las metodologías para evaluar los genes de resistencia solicitados, no serán evaluados con este nuevo indicador.

En el informe de la **Encuesta N° 29**, Ud. encontrará:

1- Resultados de tipificación bacteriana y sensibilidad a los antimicrobianos por cepa: Páginas 1, 3, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 14 y 16.

2- Distribución de las zonas de inhibición para los agentes antimicrobianos solicitados en la Encuesta: Páginas 2, 4, 8, 10, 13, 15 y 17.

3- Análisis Global de la Encuesta N°29:

- **TABLA 1.** Correlación en la tipificación bacteriana entre los Laboratorios Participantes y el Laboratorio Coordinador. Análisis por cepa. Pag. 18.
- **TABLA 2.** Correlación en la tipificación bacteriana entre los Laboratorios Participantes y el Laboratorio Coordinador. Análisis por laboratorio. Pag. 18.
- **TABLA 3.** Correlación entre la interpretación de los Laboratorios Participantes y el Laboratorio Coordinador - Método de Difusión por Discos. Pag. 19.
En esta tabla se puede ver la concordancia en la interpretación de las pruebas de sensibilidad por laboratorio (fila gris) o por antibiótico (columna verde).
- **TABLA 4.** Categorización de errores en la Interpretación - Método de Difusión por Discos. Pag. 20.
En esta tabla se encuentra la misma información que en la Tabla de la Pag. 19, pero se han categorizado las discrepancias en las categorías de interpretación de los resultados de sensibilidad (errores Mi, Ma y VMa).

- **TABLA 5.** Correlación entre los diámetros de inhibición obtenidos por los Laboratorios Participantes y los rangos establecidos por el Laboratorio Coordinador- Método de Difusión por Discos: Pag. 21.
Lo que se evalúa con esta tabla es si las zonas de inhibición obtenidas con cada antibiótico (columna verde) y por laboratorio (fila gris) se encuentran dentro de los rangos fijados por el Laboratorio Coordinador.
- **TABLA 6.** Correlación entre el “Mecanismo de resistencia inferido” por los Laboratorios Participantes y por el Laboratorio Coordinador: Pag. 22.
- **TABLA 7.** “Tiempo de demora en la respuesta” de los Laboratorios Participantes: Pag. 22.

4- Comentarios sobre la Identificación Bacteriana (Servicio Bacteriología Especial): Pag. 23-36

5- Comentarios sobre la Sensibilidad a los Antimicrobianos (Servicio Antimicrobianos): Pag. 37-70

6 - Evolución de Indicadores de Calidad: Pag. 71-73

En la evaluación de los indicadores de calidad en la Encuesta 1: se han considerado las cepas OPS 1 a OPS 10, en la Encuesta 2: las cepas OPS 11 a OPS 20, en la Encuesta 3: las cepas OPS 21 a OPS 30, en la Encuesta 4: las cepas OPS 31 a OPS 40, en la Encuesta 5: las cepas OPS 41 a OPS 50, en la Encuesta 7: las cepas OPS 51 a OPS 70 , en la Encuesta 7: las cepas OPS 71 a OPS 70, en la Encuesta 8: las cepas OPS 71 a OPS 80, en la Encuesta 9: las cepas OPS 81 a OPS 90, en la Encuesta 10: las cepas OPS 91 a 100, en la Encuesta 11: las cepas OPS 101 a 110, en la Encuesta 12: las cepas OPS 111 a 120, en la Encuesta 13: las cepas OPS 121 a 127 y 128 a 130, en la Encuesta 14: las cepas OPS 127 y 131 a 140, en la Encuesta 15: las cepas OPS 141 a 150, en la Encuesta 16: las cepas OPS 151 a 160 , en la Encuesta 17: las cepas OPS 161 a 170, en la Encuesta 18: las cepas OPS 171 a 180, en la Encuesta 19: las cepas OPS 181 a 190, en la Encuesta 20: las cepas OPS 191 a 200, en la encuesta 21: las cepas OPS 201 a 210, en la encuesta 22: las cepas OPS 211 a OPS 220, en la encuesta 23: las cepas OPS 221 a OPS 230, en la encuesta 24: las cepas OPS 231 a OPS 240, en la encuesta 25: las cepas OPS 241 a OPS 250, en la encuesta 26 las cepas OPS 251 a OPS 260, en la encuesta 27 las cepas OPS 261 a OPS 270, en la encuesta 28 las cepas OPS 271 a OPS 280 y en la encuesta 29 las cepas OPS 281 a OPS 290.

En la Encuesta 29 se han evaluado los siguientes **Indicadores de Evolución de Calidad:**

- Tipificación Bacteriana:** respuestas con género y especie correctos (Pag. 71)
- Interpretación de las pruebas de sensibilidad** (Pag. 72).
- Concordancia con los rangos de zonas de inhibición aceptables** (Pag. 72).

- iv) “Mecanismo de resistencia inferido” (Pag. 73).
- v) “Tiempo de demora en la respuesta” (Pag. 73).

7- Comentarios Generales de la Encuesta N°29: Pag. 75 - 91

Recomendaciones para mejorar el desempeño en Encuestas futuras

- Una de las funciones del PCC-LAT es la provisión de cepas de referencia tanto para la identificación bioquímica como para mecanismos de resistencia. Por tal motivo, les sugerimos **conserven las cepas enviadas** ya que les servirán como **cepas control** para la implementación de métodos feno/genotípicos en sus laboratorios ya que en su mayoría éstas se encuentran caracterizadas molecularmente en lo que respecta a sus mecanismos de resistencia y demás características fenotípicas.
- Les sugerimos **incluir siempre diversos medios de cultivo para la apertura inicial de las cepas:** agar sangre, agar chocolate, CLDE, agar Mac Conkey, caldo tioglicolato, etc, como así también incorporar **diversas condiciones de incubación** (p. ej. atmósfera enriquecida en CO₂), **con el fin de mejorar la recuperación de aquellos microorganismos fastidiosos o con requerimientos especiales.**
- A partir de la Encuesta 20 (2013) se incorporaron al listado de “**Mecanismo de resistencia inferido**” nuevos códigos correspondientes a **mecanismos combinados**, para que los laboratorios tengan la posibilidad de **indicar cuando sea posible sólo una opción. En el caso de detectar más de un mecanismo se podrá indicar más de un código. RECORDAR QUE EL INFORME DE ESTE CAMPO ES OBLIGATORIO.**

Es nuestra finalidad que el análisis de resultados de esta Encuesta le sea de utilidad y que su laboratorio continúe creciendo como hasta ahora, en lo que respecta a la calidad de informe brindado. Esta mejora en la calidad, sin lugar a duda se verá reflejada en un beneficio directo a la comunidad de su país.

Le solicitamos nos haga saber sobre cualquier discrepancia en los datos o cualquier sugerencia que nos sirva para mejorar la estructura de este informe.

Saludamos a Ud. cordialmente y hasta la próxima Encuesta!!



Alejandra Corso

Servicio Antimicrobianos

www.antimicrobianos.com.ar

Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas
ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina
Av. Vélez Sarsfield

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

**Cepa OPS 281
*Vibrio vulnificus***

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

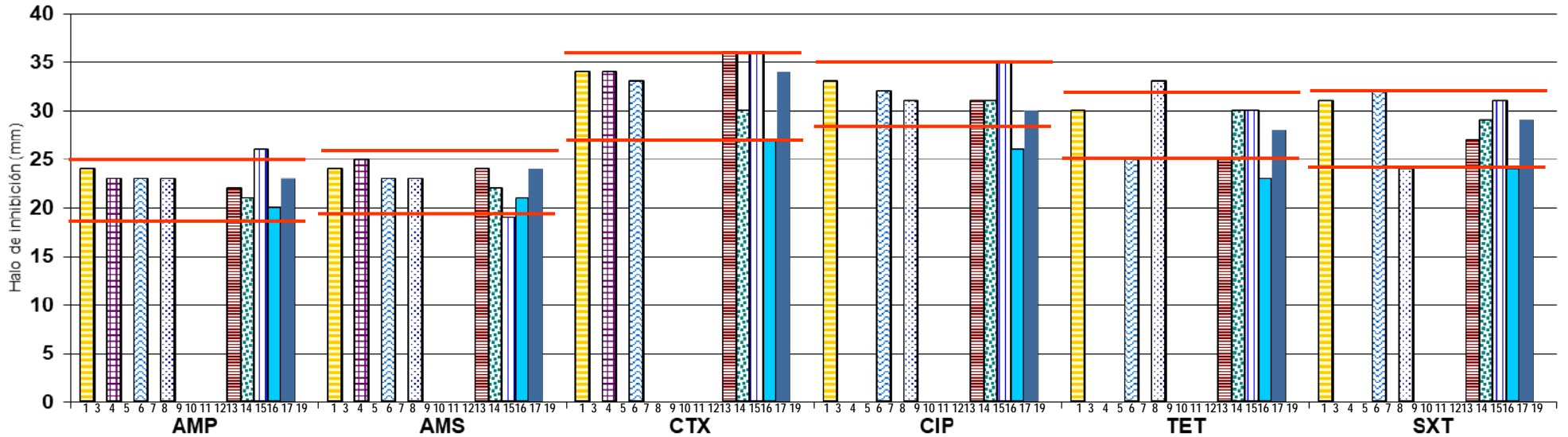
Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	Vibrio vulnificus	10
Género correcto	--	--
Género correcto, especie incorrecta	--	--
Género incorrecto	--	1

Pruebas de Sensibilidad

Antibiótico	Carga del disco (µg)	LRR		Laboratorio (03)		N° de laboratorios		
		Diam (mm)	Interp	Diam (mm)	Interp	S	I	R
Ampicilina	10	18-25	S	--	S	10	--	--
Ampicilina/sulbactam	10/10	19-26	S	--	S	10	--	--
Cefotaxima	30	27-36	S	--	S	10	--	--
Ciprofloxacina	5	28-35	S	--	S	9	--	--
Tetraciclina	30	25-32	S	--	S	10	--	--
Trimetoprima/sulfametoxazol	1.25/ 23.75	34-32	S	--	S	10	--	--

OPS 281: *Vibrio vulnificus*



Rango aceptable para el Laboratorio Coordinador (mm): Ampicilina (AMP): 18-25, Amoxicilina/Sulbactam (AMS): 19-26, Cefotaxima (CTX): 27-36, Ciprofloxacina (CIP): 28-35, Tetraciclina (TET): 25-32, Trimetoprima/sulfametoxazol (SXT): 24-32.

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

**Cepa OPS 282
*Klebsiella aerogenes***

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

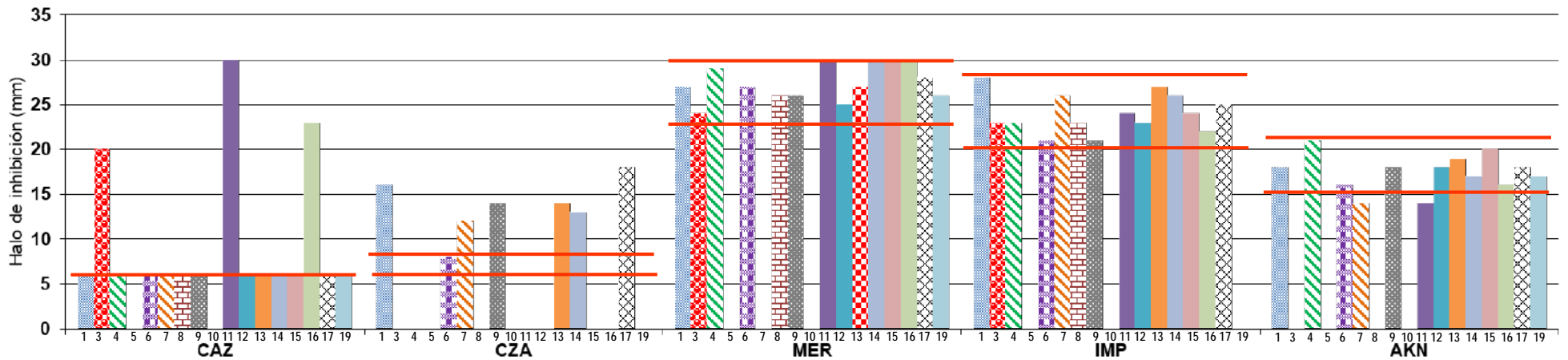
Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	Klebsiella aerogenes	12
Género correcto	--	--
Género correcto, especie incorrecta	--	--
Género incorrecto	--	4

Pruebas de Sensibilidad

Antibiótico	Carga del disco (µg)	LRR		Laboratorio 03		N° de laboratorios		
		Diam (mm)	Interp	Diam (mm)	Interp	S	I	R
Ceftazidima	30	6	R	20	R	1	--	15
Ceftazidima/avibactam	10/4	7	R	--	S	1	--	12
Amicacina	30	18	I-S	--	S	12	2	2

OPS 282: *Klebsiella aerogenes*



Rango aceptable para el Laboratorio Coordinador (mm): Ceftazidima (CAZ): 6, Ceftazidima/avibactam (CZA): 6-8, Meropenem (MER): 23-30, Imipenem (IMP): 20-28, Amicacina (AMK): 15-21.

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

**Cepa OPS 283
*Streptococcus suis***

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	Streptococcus suis	13
Género correcto	--	0
Género correcto, especie incorrecta	--	1
Género incorrecto	--	0

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

**Cepa OPS 284
*Comamonas kertersii***

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	Comamonas kertersii	8
Género correcto	--	1
Género correcto, especie incorrecta	--	5
Género incorrecto	--	2

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

**Cepa OPS 285
*Staphylococcus aureus***

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

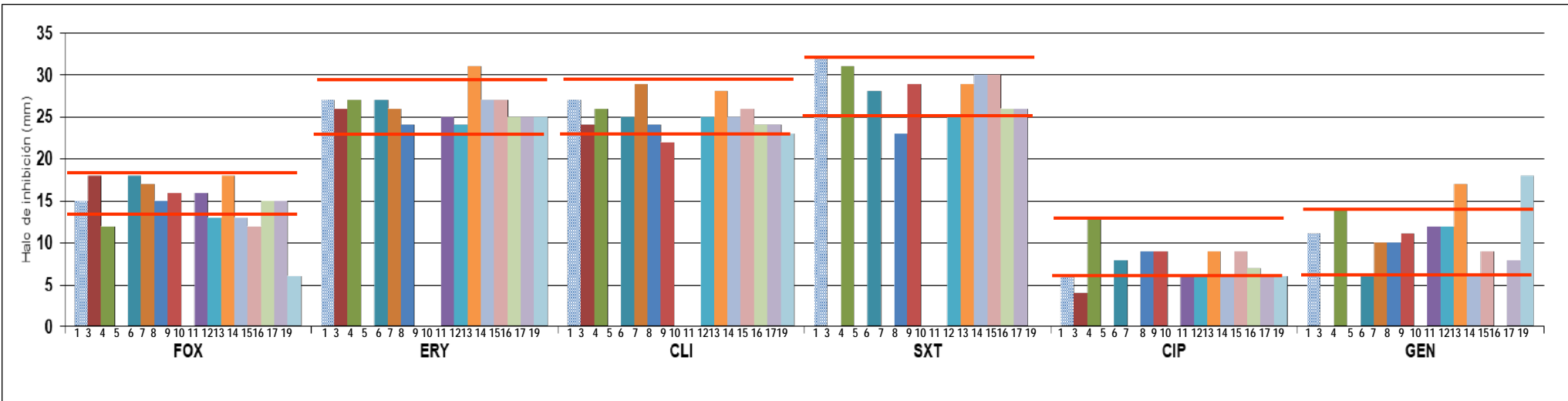
Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	Staphylococcus aureus	16
Género correcto	--	0
Género correcto, especie incorrecta	--	0
Género incorrecto	--	0

Pruebas de Sensibilidad

Antibiótico	Carga del disco (µg)	LRR		Laboratorio (03)		N° de laboratorios		
		Diam (mm)	Interp	Diam (mm)	Interp	S	I	R
Cefoxitina	30	16	S	18	R	10	--	--
Eritromicina	15	27	S	26	S	10	--	--
Clindamicina	2	27	S	24	S	10	--	--
Ciprofloxacina	5	11	S	--	R	9	--	--
Gentamicina	10	11	S	--	R	10	--	--
Trimetoprima/sulfametoxazol	1.25/ 23.75	28	S	--	S	10	--	--

OPS 285: *Staphylococcus aureus*



Rango aceptable para el Laboratorio Coordinador (mm): Cefoxitina (FOX): 13-18, Eritromicina (ERY): 23-29, Clindamicina (CLI): 23-29, Trimetoprima/sulfametoxazol (SXT): 25-32, Ciprofloxacina (CIP): 6-13, Gentamicina (GEN): 6-14.

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

**Cepa OPS 286
*Pseudomonas putida***

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

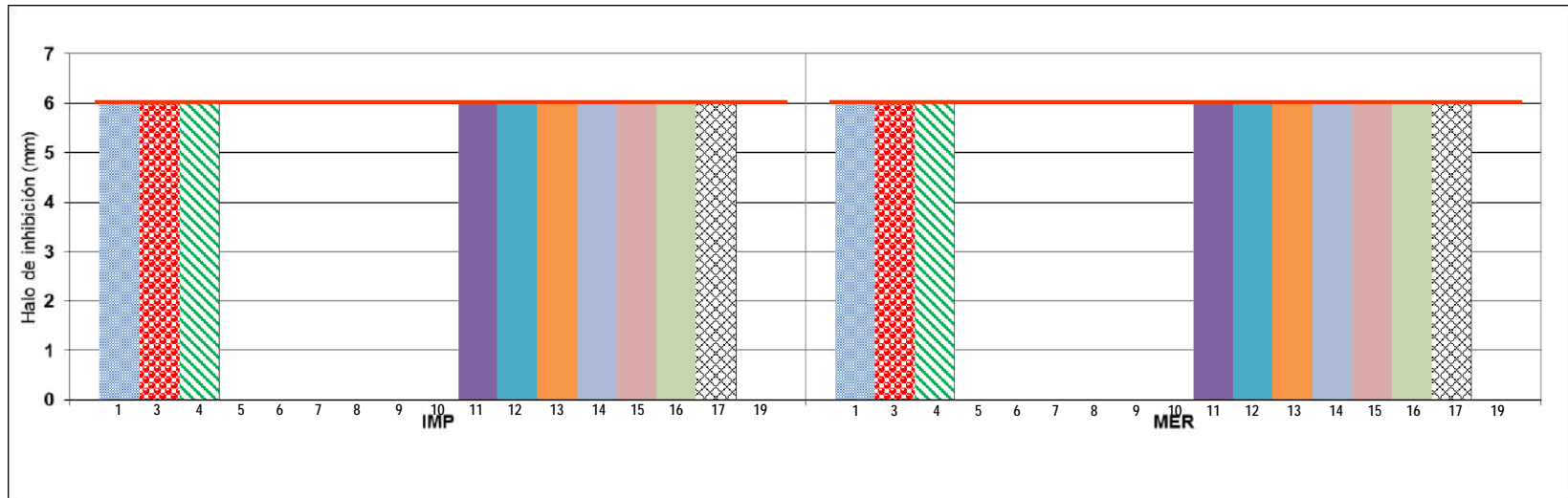
Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	<i>Pseudomonas putida</i>	15
Género correcto	--	--
Género correcto, especie incorrecta	--	1
Género incorrecto	--	0

Pruebas de Sensibilidad

Antibiótico	Carga del disco (µg)	LRR		Laboratorio (03)		N° de laboratorios		
		Diam (mm)	Interp	Diam (mm)	Interp	S	I	R
Imipenem	10	6	R	6	R	--	--	16
Meropenem	10	6	R	6	R	--	--	16

OPS 286: *Pseudomonas putida*



Rango aceptable para el Laboratorio Coordinador (mm): Imipenem (IMP): 6, Meropenem (MER): 6.

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

**Cepa OPS 287
*Ralstonia insidiosa***

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	Ralstonia insidiosa	12
Género correcto	--	0
Género correcto, especie incorrecta	--	1
Género incorrecto	--	1

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

Cepa OPS 288
Acinetobacter baumannii

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

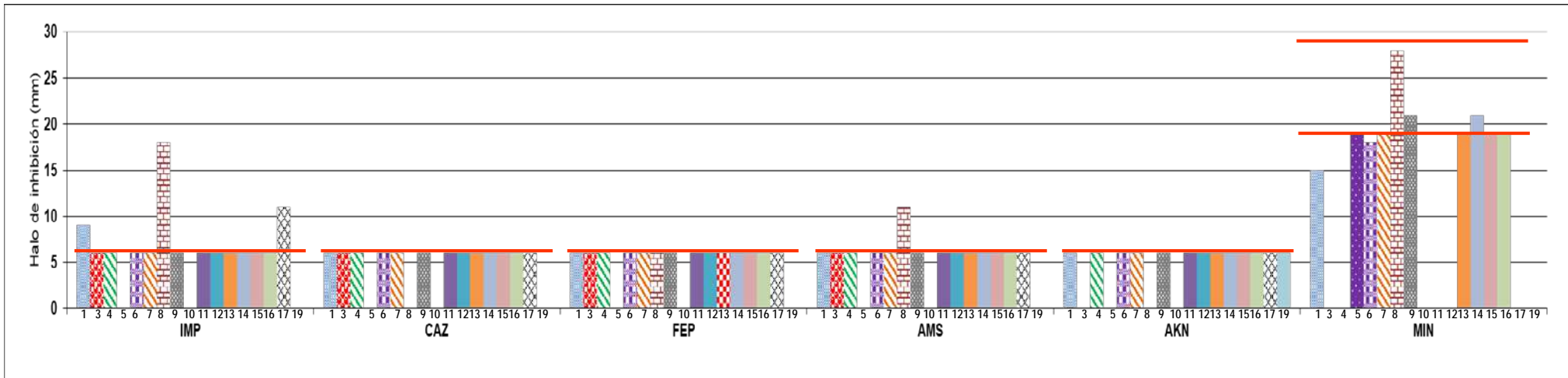
Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	<i>Acinetobacter calcoaceticus baumannii</i>	15
Género correcto	--	1
Género correcto, especie incorrecta	--	--
Género incorrecto	--	0

Pruebas de Sensibilidad

Antibiótico	Carga del disco (µg)	LRR		Laboratorio (03)		N° de laboratorios		
		Diam (mm)	Interp	Diam (mm)	Interp	S	I	R
Imipenem	10	6	R	6	R	--	--	16
Ceftazidima	30	6	R	6	R	--	--	16
Cefepime	30	6	R	6	R	--	--	16
Ampicilina/Sulbactam	10/10	6	R	6	R	--	1	15
Amicacina	30	6	R	--	R	--	--	16
Minociclina	30	24	S	--	S	12	1	1

OPS 288: *Acinetobacter baumannii*



Rango aceptable para el Laboratorio Coordinador (mm): Imipenem (IMP): 6, Ceftazidima (CAZ): 6, Cefepime (FEP): 6, Ampicilina/Sulbactam (AMS): 6, Amicacina (AKN): 6, Minociclina (MIN): 19-29.

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

**Cepa OPS 289
*Klebsiella oxytoca***

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

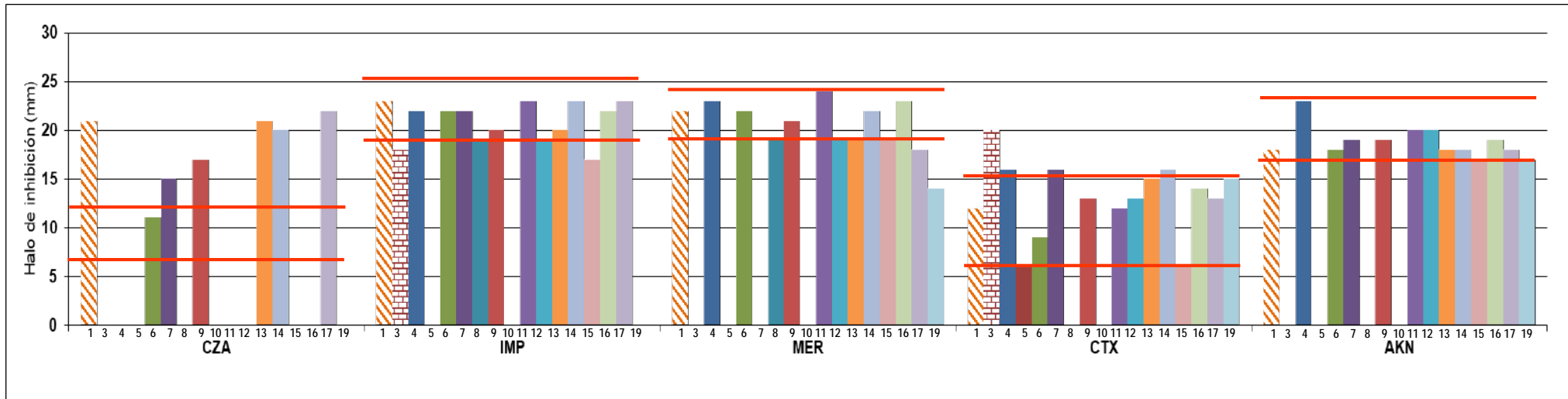
Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	<i>Klebsiella oxytoca</i>	16
Género correcto	--	0
Género correcto, especie incorrecta	--	0
Género incorrecto	--	0

Pruebas de Sensibilidad

Antibiótico	Carga del disco (µg)	LRR		Laboratorio (03)		N° de laboratorios		
		Diam (mm)	Interp	Diam (mm)	Interp	S	I	R
Ceftazidima/avibactam	10/4	10	R	--	R	5	--	8
Imipenem	10	21	R	18	R	2	3	11
Meropenem	10	22	R	--	R	2	1	12
Cefotaxima	30	11	R	20	R	--	--	15
Amicacina	30	20	S	--	S	15	--	1

OPS 289: *Klebsiella oxytoca*



Rango aceptable para el Laboratorio Coordinador (mm): Cefotazidima/avibactam (CZA): 7-12, Imipenem (IMP): 18-25, Meropenem (MER): 18-24, Cefotaxima (CTX): 6-15, Amicacina (AMK): 17-23.

PROYECTO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
EN LAS AMERICAS

**PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD EN BACTERIOLOGÍA Y
RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS**

Encuesta N° 29

**Cepa OPS 290
*Klebsiella pneumoniae***

Laboratorio: INST. NAC. DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA "Dr.
Leopoldo Izquieta Pérez"

Código: 03

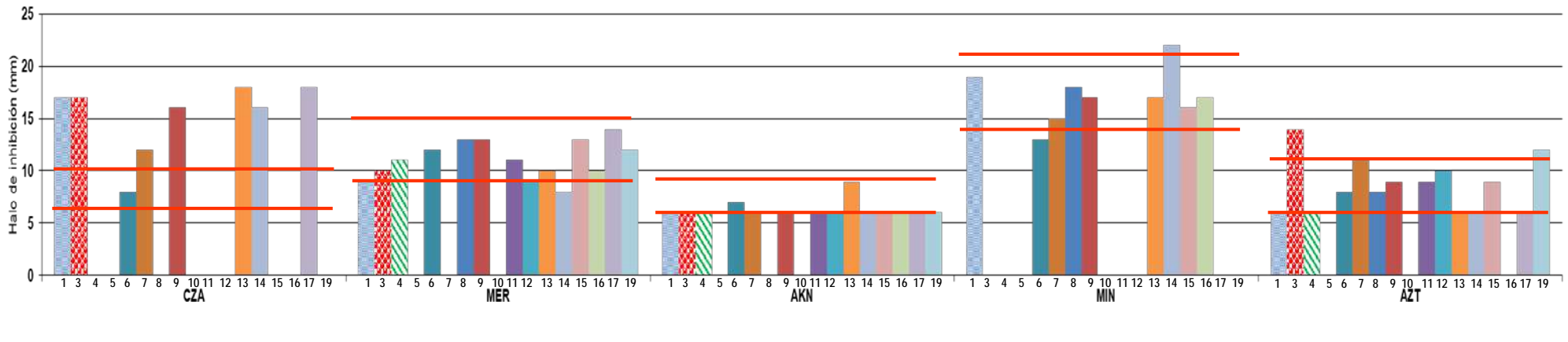
Identificación Bioquímica

	Resultado de laboratorio (03)	N° de Laboratorios
Género y especie correctos	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16
Género correcto	--	0
Género correcto, especie incorrecta	--	0
Género incorrecto	--	0

Pruebas de Sensibilidad

Antibiótico	Carga del disco (µg)	LRR		Laboratorio (03)		N° de laboratorios		
		Diam (mm)	Interp	Diam (mm)	Interp	S	I	R
Ceftazidima/avibactam	10/4	7	R	17	R	--	--	13
Meropenem	10	12	R	10	R	--	--	16
Amicacina	30	6	R	6	R	--	2	14
Minociclina	30	17	I-S	--	S	8	1	3
Aztreonam	30	7	R	14	R	--	--	15

OPS 290: *Klebsiella pneumoniae*



Rango aceptable para el Laboratorio Coordinador (mm): Ceftazidima/avibactam (CZA): 6-10, Meropenem (MER): 9-15, Amicacina (AMK): 6-9, Minociclina (MIN): 14-21, Aztreonam (AZT): 6-11.



Análisis Global - Encuesta N° 29 – 2022

**TABLA 1. Correlación en la Tipificación Bacteriana entre los LNRs y el LRR.
Análisis por cepa.**

Número de Laboratorios		OPS 281	OPS 282	OPS 283	OPS 284	OPS 285	OPS 286	OPS 287	OPS 288	OPS 289	OPS 290	Total
		<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Klebsiella aerogenes</i>	<i>Streptococcus suis</i>	<i>Comamonas kertersii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Ralstonia insidiosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Género y especie correctos	(n)	10	12	13	8	16	15	12	15	16	16	133
	(%)	90,9	75,0	92,9	50,0	100,0	93,8	85,7	93,8	100,0	100,0	88,1
Género correcto	(n)	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	2
Género correcto, especie incorrecta	(n)	0	4	1	5	0	1	1	0	0	0	12
Género incorrecto	(n)	1	0	0	2	0	0	1	0	0	0	4

**TABLA 2. Correlación en la Tipificación Bacteriana entre los LNRs y el LRR.
Análisis por laboratorio.**

Número de aislamientos	Código de LNR																Total
	1	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	19	
Total de aislamientos estudiados	10	10	10	8	10	9	10	10	8	8	10	10	9	10	10	9	151
Género, y especie correctos	7	10	8	6	10	9	9	10	6	6	7	10	9	10	10	6	133
Género correcto	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2
Género correcto, especie incorrecta	2	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	2	9
Género incorrecto	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	7
Concordancia en la identificación (%)	70,0	100,0	80,0	75,0	100,0	100,0	90,0	100,0	75,0	75,0	70,0	100,0	100,0	100,0	100,0	66,7	88,1

Cepas consideradas en el análisis: OPS 281 a OPS 290.

Análisis Global - Encuesta N° 29 – 2022

TABLA 3. Correlación entre la interpretación de los LNRs y el LRR.

Método de Difusión por Discos o CIM

ANTIBIOTICO	Código de LNR																Total	%
	1	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	19		
Ampicilina/sulbactam	2/2	2/2	2/2	0/1	2/2	1/1	2/2	1/1	1/1	1/1	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/1	25/26	96,2
Cefotaxima	3/3	3/3	3/3	1/1	3/3	2/2	0/0	2/2	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	3/3	2/2	2/2	35/35	100,0
Ceftazidima	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2	2/2	31/32	96,9
Ceftazidima/avivactam	2/3	2/3	2/3	3/3	3/3	3/3	2/3	3/3	3/3	3/3	0/0	2/3	2/3	3/3	0/0	2/3	33/39	84,6
Trimetoprima-sulfametoxazol	2/2	2/2	2/2	1/1	2/2	1/1	2/2	1/1	1/1	1/1	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/1	26/26	100,0
Meropenem	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	32/32	100,0
Imipenem	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	32/100	32,0
Ciprofloxacina	2/2	2/2	1/1	1/1	2/2	1/1	2/2	1/1	1/1	1/1	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/1	25/25	100,0
Amicacina	4/4	4/4	3/4	3/4	4/4	3/4	3/4	4/4	3/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	59/64	92,2
Colistin	4/4	4/4	0/1	3/3	4/4	4/4	4/4	4/4	1/1	0/0	4/4	4/4	4/4	0/0	4/4	3/4	47/49	95,9
Cefoxitina	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	16/16	100,0
Eritromicina	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	16/16	100,0
Clindamicina	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	16/16	100,0
Gentamicina	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	1/1	0/1	12/15	80,0
Minociclina	1/2	2/2	0/0	1/1	1/2	2/2	2/2	2/2	1/2	0/0	2/2	2/2	2/2	2/2	0/1	1/2	21/26	80,8
Aztreonam	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	1/1	15/15	100,0
Cefepime	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	16/16	100,0
Ampicilina	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/0	10/10	100,0
Tetraciclina	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/0	10/10	100,0
Penicilina	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	0/0	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	13/13	100,0
Total	35/36	36/37	29/31	24/26	36/36	29/31	33/34	31/31	24/25	20/20	35/37	36/37	37/37	27/29	33/34	25/27	490/508	96,5
%	97,2	97,3	93,5	92,3	100,0	93,5	97,1	100,0	96,0	100,0	94,6	97,3	100,0	93,1	97,1	92,6		

[N° de determinaciones interpretadas correctamente / N° de determinaciones totales]

Cepas consideradas en el análisis: OPS 281 a OPS 290.

Análisis Global - Encuesta N° 29 - 2022

TABLA 4. Categorización de errores en la Interpretación.

Método de Difusión por Discos

ANTIBIOTICO	Código de LNR																	Nro. de errores			
	1	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	19	Mi	Ma	Vma	Total	
Ampicilina/sulbactam				Mi													1			1	
Cefotaxima																				0	
Ceftazidima														Vma					1	1	
Ceftazidima/avivactam	Vma	Vma				Vma					Vma	Vma			Vma				6	6	
Trimetoprima-sulfametoxazol																				0	
Meropenem																				0	
Imipenem																				0	
Ciprofloxacina																				0	
Amicacina			Ma	Mi		Ma	Mi		Ma								2	3		5	
Colistin			Ma													Ma		2		2	
Cefoxitina																				0	
Eritromicina																				0	
Clindamicina																				0	
Gentamicina												Vma			Mi		Vma		2	3	
Minociclina	Mi				Mi				Mi							Ma	Mi		5		
Aztreonam																				0	
Cefepime																				0	
Ampicilina																				0	
Tetraciclina																				0	
Penicilina																				0	
Total																	8	6	9	23	

VMa: Error very major, Ma: Error major, Mi: Error minor.

Cepas consideradas en el análisis: OPS 281 a OPS 290.

Análisis Global - Encuesta N° 29 – 2022

TABLA 5. Correlación entre los diámetros de inhibición obtenidos por los LNRs y los rangos establecidos por el LRR.

Método de Difusión por Discos

ANTIBIOTICO	Código de LNR																Total *	%
	1	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	19		
Ampicilina/sulbactam	2/2	1/1	2/2	0/0	2/2	1/1	1/2	1/1	1/1	1/1	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	0/0	22/23	95,7
Cefotaxima	2/2	0/1	1/2	1/1	2/2	0/1	0/0	1/1	1/1	1/1	2/2	1/2	2/2	2/2	2/2	1/1	19/23	82,6
Ceftazidima	2/2	1/2	2/2	0/0	2/2	2/2	1/1	2/2	1/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2	1/1	25/28	89,3
Trimetoprima-sulfametoxazol	2/2	0/0	1/1	0/0	2/2	0/0	1/2	1/1	0/0	1/1	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	0/0	18/19	94,7
Meropenem	2/2	2/2	2/2	0/0	1/1	0/0	1/1	1/1	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2	2/2	2/2	1/1	23/24	95,8
Imipenem	1/2	2/2	2/2	0/0	1/1	1/1	0/1	1/1	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/2	0/0	21/24	87,5
Ciprofloxacina	2/2	1/1	1/1	0/0	2/2	0/0	2/2	1/1	1/1	1/1	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2	1/1	21/22	95,5
Amicacina	4/4	1/1	4/4	0/0	4/4	3/4	0/0	4/4	3/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	51/53	96,2
Cefoxitina	1/1	1/1	0/1	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	1/1	1/1	0/1	12/15	80,0
Eritromicina	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	1/1	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	13/14	92,9
Clindamicina	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	14/14	100,0
Gentamicina	1/1	0/0	1/1	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	1/1	1/1	0/0	1/1	0/1	11/13	84,6
Minociclina	1/2	1/1	0/0	1/1	0/2	2/2	2/2	2/2	0/1	0/0	2/2	2/2	2/2	2/2	0/0	0/1	17/22	77,3
Aztreonam	1/1	0/1	1/1	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	0/1	12/14	85,7
Cefepime	1/1	1/1	1/1	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/0	14/14	100,0
Ampicilina	1/1	0/0	1/1	0/0	1/1	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1	0/1	1/1	1/1	0/0	8/9	88,9
Tetraciclina	1/1	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/0	7/8	100,0
Total	26/28	13/16	21/23	2/2	24/26	15/17	15/19	19/19	16/19	20/20	26/28	26/28	26/28	24/26	25/26	10/14	308/339	90,9
%	92,9	81,3	91,3	100,0	92,3	88,2	78,9	100,0	84,2	100,0	92,9	92,9	92,9	92,3	96,2	71,4	90,9	

*[N° de determinaciones dentro del rango aceptable por el LRR / N° de determinaciones totales]

Cepas consideradas en el análisis: OPS 281 a OPS 290.

Análisis Global - Encuesta N° 29 – 2022

TABLA 6. Correlación en el Mecanismo de Resistencia inferido entre los LNRs y el LRR.

Análisis por laboratorio

		Código de LNR																Total
		1	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	19	
Mecanismo de Resistencia Inferido	Total	6/8	8/8	7/8	6/6	8/8	7/7	8/8	8/8	5/6	6/6	8/8	7/8	8/8	6/8	8/8	4/7	110/120
	%	75,0	100,0	87,5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	83,3	100,0	100,0	87,5	100,0	75,0	100,0	57,1	91,7

[Nº de mecanismos inferidos coincidentes con el Laboratorio Coordinador / Nº de mecanismos inferidos totales]

. TABLA 7. Tiempo Promedio de Demora en la Respuesta.

Análisis por laboratorio

	Código de LNR																Mediana
	1	3	4	5	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16	17	19	
Tiempo de demora en la respuesta (días)	60	28	37	60	28	20	40	28	40	42	40	40	30	30	38	40	39

Cepas consideradas en el análisis: OPS 281 a OPS 290

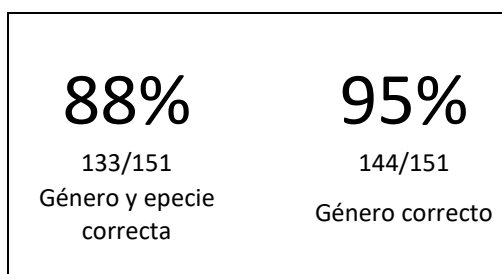
COMENTARIOS SOBRE LA IDENTIFICACION

SERVICIO BACTERIOLOGÍA ESPECIAL

Dra. Mónica Prieto

bacteriologiaespecial@anlis.gob.ar

El desempeño general de los participantes en la identificación fue muy bueno.



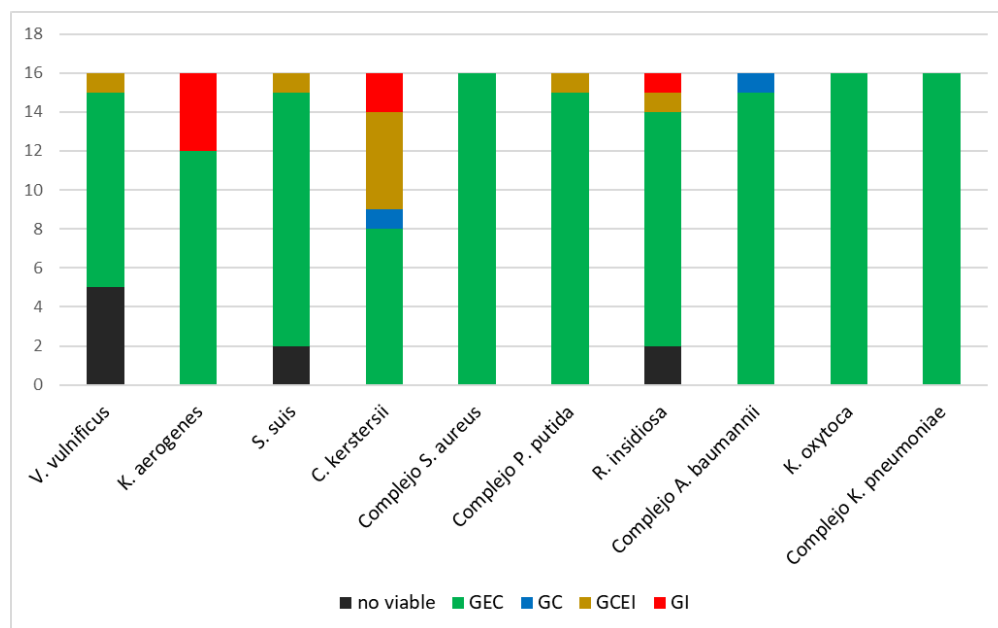
Considerando que en esta encuesta fueron incluidos géneros de difícil identificación como *Ralstonia* y *Comamonas*, los resultados han sido excelentes. Las observaciones principales con respecto a respuestas erróneas y/ o conflictivas resultaron de la falta de actualización de la nomenclatura taxonómica vigente, de la aplicación de secuenciación del gen 16SrSRN sin considerar las limitaciones de esta metodología durante la interpretación de resultados y para aquellos participantes que no han incorporado aún métodos automatizados, MALDITOF-MS o pruebas moleculares, la sugerencia es reconocer las limitaciones de las pruebas bioquímicas para diferenciar especies muy relacionadas e informar a nivel de género o complejo. En el cuadro 1 se detallan las respuestas informadas.

Finalmente, 5% (9/160) de las cepas no pudieron ser recuperadas y fueron informadas como no viables. Estas incluyeron cepas enviadas en formato liofilizado (7) y no liofilizado (2).

La liofilización es un proceso que tiene como objetivo separar el agua (u otro solvente) de una disolución mediante congelación y posterior sublimación del hielo a presión reducida. Para las cepas que fueron enviadas en formato liofilizado se utilizó leche descremada como solvente y crioprotector, por lo cual, el agregado de no más de 0.5 ml de agua destilada estéril resulta suficiente para rehidratar el polvo y sub-cultivar la suspensión en medios

nutritivos líquidos y sólidos. Algunos investigadores, recomiendan re-hidratar en caldo nutritivo debido al estrés que sufren las células durante el proceso de congelamiento y deshidratación. No es recomendable utilizar solución fisiológica. El punto más crítico, es hidratar en volumen de no más de 0.3 a 0.5 ml, homogeneizar suavemente mediante pipeteo hasta obtener una suspensión y sub-cultivar en medios adecuados en forma inmediata.

Cuadro 1: Desempeño en identificación –Encuesta 29



GEC: género y especie correcta; GC: género correcto; GCEI: género correcto especie incorrecta; GI: género incorrecto

Cepa OPS 281: *Vibrio vulnificus*

Seis participantes no lograron revivir el cultivo liofilizado, sin embargo, **el participante 9** aplicó un abordaje molecular para la identificación, lo cual resaltamos ya que entre las funciones de los laboratorios de referencia en la identificación del agente etiológico asociado a una infección, podremos encontrarnos con muestras clínicas en las cuales no se recupera el patógeno en cultivo por diversos motivos como tratamiento antibiótico previo o características particulares del microorganismo. Considerar los abordajes moleculares para aquellos casos en los cuales no se logra cultivo es un avance y un logro importante.

75% (9/12) de los laboratorios que lograron revivir el cultivo liofilizado identificaron género y especie en forma correcta. Las respuestas y observaciones se detallan en el cuadro 2.

Cuadro 2: Respuestas y observaciones cepa OPS 281

Participante	Respuesta informada	Metodología utilizada	Notas
1	<i>V. mimicus</i>	PM	Las pruebas utilizadas son insuficientes para lograr diferenciación de especie. No incluyeron las pruebas que evalúan desarrollo en caldo con distintas concentraciones de cloruro de sodio, que son esenciales para la diferenciación entre <i>V. mimicus</i> (desarrollo en NaCl 0% positivo) y <i>V. vulnificus</i> (desarrollo en NaCl 0% negativo). Se recomienda informar como <i>Vibrio</i> sp no- <i>cholerae</i> , cuando no se cuenta con todas las pruebas o metodología necesaria para una correcta identificación de especie
3	<i>V. vulnificus</i>	PM+ A	
4	<i>V. vulnificus</i>	PM+A+Min	
5	no viable		
6	<i>V. vulnificus</i>	PM +A	
7	no viable		
8	<i>V. vulnificus</i>	A + MS	
9	<i>V. vulnificus</i>		
11	no viable		
12	no viable		
13	<i>V. vulnificus</i>	PM	Incluyeron la determinación de desarrollo en distintas concentraciones de NaCl, las cuales son pruebas esenciales para lograr correcta identificación de las distintas especies del género utilizando sólo pruebas bioquímicas.
14	<i>V. vulnificus</i>	PM	
15	<i>V. vulnificus</i>	MS	
16	<i>V. vulnificus</i>	PM + A	
17	<i>V. vulnificus</i>	MS + A	
19	no viable		

Abreviaturas: PM: pruebas manuales; A: métodos automatizados; Min: galerías miniaturizadas; MS: espectrometría de masas MALDITOF-MS

Cepa OPS 282: *Klebsiella aerogenes*

100% (16/16) de los participantes informaron resultados y si bien todos lograron identificar correctamente el taxón, sólo **75%** (12/16) informaron con la nomenclatura vigente.

25% de los participantes (4/16) informaron como *Enterobacter aerogenes*. La reclasificación de esta especie al género *Klebsiella*, está vigente desde el año 2017. La importancia clínica de esta reclasificación ha sido documentada. *Klebsiella aerogenes* (anteriormente *Enterobacter aerogenes*) se asocia con peor pronóstico clínico en relación con otras especies de *Enterobacter* en pacientes con infección del torrente sanguíneo. Por lo tanto, es importante utilizar la nomenclatura vigente para unificar la comunicación científica y poder estudiar la epidemiología del patógeno. Se recomienda en el apartado de referencias, un reciente artículo de Wesevich y col. que puede resultar de interés. Es por estos motivos, que consideramos que, como laboratorios de referencia, informar *E. aerogenes* es incorrecto. Dos de los laboratorios utilizaron solo pruebas manuales, por lo cual recomendamos actualizar la taxonomía de los algoritmos de identificación utilizados. Dos laboratorios utilizaron método automatizado (1) y galería miniaturizada API (1). En este caso sugerimos que reclamen con su proveedor para que instalen las bases de datos actualizadas.

La incorporación de los métodos de secuenciación masiva ha provocado que las reclasificaciones taxonómicas sean cada vez más frecuentes. Sugerimos a todos los laboratorios de referencia, siempre revisar si sus resultados de identificación coinciden con la nomenclatura vigente. El sitio de acceso libre www.bacterio.net, es una herramienta indispensable para mantenerse actualizado respecto a estos cambios. Se incluye en la sección Referencias un enlace para acceder a un simple tutorial sobre la utilización de esta herramienta para quienes no la han utilizado.

Cepa OPS 283: *Streptococcus suis*

Este cultivo fue enviado en formato liofilizado debido a los problemas de esta especie para mantener su viabilidad. Sólo 2 participantes no recuperaron el cultivo.

93% (13/14) de los laboratorios informaron correctamente. **Felicitaciones a todos los participantes.** Desde el punto de vista epidemiológico, es muy importante la capacidad de identificación de esta especie y su diferenciación del grupo de los estreptococos viridans (EGV).

S. suis es un patógeno de cerdos con elevado impacto en la industria porcina. Es un agente zoonótico emergente que causa infecciones graves en humanos, incluida meningitis y septicemia, lo que resulta en complicaciones graves. Se considera una enfermedad ocupacional en aquellas personas que manipulan carne o productos derivados de porcinos.

Es importante sospechar la presencia de *S. suis* cuando se aísla un estreptococo alfa hemolítico en muestras de sangre y especialmente de LCR de pacientes con antecedentes epidemiológicos compatibles.

La capacidad del laboratorio para identificar correctamente esta especie en casos de meningitis o septicemia es esencial para llevar a cabo una investigación que establezca el vínculo epidemiológico y de esta forma detectar la fuente de la infección, (muchas veces asociada a la venta clandestina de carne porcina proveniente de granjas domésticas que no llevan a cabo los controles sanitarios) y permite realizar denuncias oportunas e intervenciones de funcionarios de Salud Pública para prevenir y controlar la aparición de otros casos de infección invasiva en humanos.

En general son sensibles a penicilinas y cefalosporinas de tercera generación. No obstante, se han detectado aislados resistentes a penicilina en humanos y en cerdos. También se detectado la resistencia a cefalosporinas de tercera generación y muy frecuentemente la resistencia a altos niveles de aminoglucósidos.

No existe mucha información sobre la epidemiología de la infección por *S. suis* en humanos en Latinoamérica. En la Argentina, este patógeno se encuentra bajo vigilancia y se ha demostrado que el clon asociado a infección humana y porcina en el país es el más virulento. Adjunto un trabajo de Callejo y col. sobre la diferente distribución de los clones circulantes en Argentina y Norteamérica que puede resultar de interés.

El participante 1, informó como *S. mitis*.

S. suis presenta hemólisis alfa o gamma en agar sangre ovina y por ello se lo puede considerar como un (EGV) pero puede presentar hemólisis beta en agar sangre humana. Los determinantes antigénicos de su pared comparten epitopes con el grupo D de Lancefield y puede dar reacciones de aglutinación cruzadas con este grupo. Sin embargo, a diferencia de los enterococos, dan negativas las pruebas de bilis esculina y tolerancia a 6,5% de NaCl, pero dan positiva la leucinaminopeptidasa (LAP) y algunas cepas pueden dar positiva la prueba de

pirrolidonilarilamidasa (PYR). Una prueba de PYR positiva permitiría diferenciarlo rápidamente de los estreptococos del grupo *S. bovis*.

Un manual para la identificación presuntiva de cocos gram positivos catalasa negativa con pruebas bioquímicas puede descargarse del enlace <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/2432>.

Cepa OPS 284: *Comamonas kerstersii*

87.5% (14/16) de los participantes lograron la identificación a nivel de género. Identificar género dentro del grupo de los bacilos no fermentadores inactivos es un logro, por lo tanto, **felicitaciones a todos**.

50% (8/16) de los laboratorios informaron correctamente *C. kerstersii*. De este grupo, 5 participantes utilizaron MALDITOF-MS.

Consideramos resaltar **el excepcional criterio de los participantes 3, 6 y 16**, quienes utilizaron pruebas manuales y automatizado Vitek 2, probablemente arribando a identificación de *C. testosteroni*. Los laboratorios 3 y 16 incluyeron la secuenciación del gen 16S rARN y el laboratorio 6 agregó las pruebas adicionales para diferenciar *C. testosteroni* de *C. kerstersii*, lo cual demuestra el conocimiento sobre la infrecuencia de las infecciones por *Comamonas*, el análisis del contexto clínico (bacteriemia-apendicitis) y el conocimiento de *C. kerstersii* como patógeno emergente.

El participante 1 informó incorrectamente como *Pseudomonas* CDC grupo 1, reflejando que los algoritmos de identificación utilizados para el grupo de los BNF son obsoletos. Además, las pruebas manuales utilizadas no incluyen los marcadores de identificación útiles para las aperturas de identificación de BNF. Por ejemplo, la producción de ácido de glucosa (GluO) es una prueba indispensable para diferenciar el grupo de los BNF sacarolíticos de los inactivos. Para la implementación de algoritmos de identificación actualizados, recomendamos la lectura del capítulo de BNF del Manual de Microbiología publicado por la Asociación Argentina de Microbiología que puede descargarse del siguiente enlace: <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/BNFFINALAlmuzaraVay.pdf>

El participante 11 informó *Kocuria rhizophila*, claramente se trató de una contaminación

La diferenciación fenotípica de las especies de *Comamonas* (*C. kerstersii* y *C. testosteroni*) es dificultosa y cuando no se cuenta con metodología que permita una identificación inequívoca como la secuenciación del gen 16SrARN o MALDITOF-MS, se deben informar como *Comamonas* sp. Por lo tanto, un reconocimiento al buen criterio del participante 13 que utilizó solo pruebas bioquímicas manuales e informó *Comamonas* sp.

C. kerstersii no está incluida en la base de datos de diferentes sistemas comerciales de identificación fenotípica. Los sistemas automatizados identificarán *C. kerstersii* como *Comamonas* sp. o *C. testosteroni*. En estos casos, las pruebas de PYR y desarrollo a 42 C son útiles cuando se sospecha *C. kerstersii* por tratarse de un aislado asociado a infecciones intrabdominales. Sin embargo, la identificación debería ser confirmada por MALDITOF-MS o secuenciación del gen 16SrARN.

	PYR	Desarrollo a 42° C
<i>C. testosteroni</i>	+	-
<i>C. kerstersii</i>	-	+

Cepa OPS 285: *Staphylococcus aureus*

100% informó correctamente.

NOTA: Actualmente se considera Complejo *S. aureus*, el cual incluye las especies *S. aureus*, *S. argenteus* (ex *S. aureus* CC 75), *S. schweitzeri*, *S. roterodami* y *S. singaporensis*. Esta consideración es importante para aquellos laboratorios que utilicen MALDITOF-MS con las últimas versiones de las bases de datos, las cuales incluyen alguna de estas especies. En estos casos, es importante tener en cuenta que se debe informar como Complejo *S. aureus*.

Los miembros del grupo de estudio para estafilococos de la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (ESCMID) ha establecido su posición con respecto a la necesidad de distinguir entre las especies del complejo *S. aureus* y propusieron: “No distinguir dentro del complejo *S. aureus* para propósitos de informes de rutina hasta que haya evidencia de que la patogenicidad o el resultado clínico difieren notablemente entre las diferentes especies. Se alienta a los laboratorios debidamente equipados a diferenciar entre *S. argenteus* y *S. schweitzeri* con fines de investigación. Se recomienda precaución si estas nuevas especies se informan explícitamente. En

tales casos, se debe agregar un comentario específico (es decir, 'miembro del complejo *S. aureus*') para evitar confusiones con estafilococos menos o no patógenos". (Becker y col. 2019).

Cepa OPS 286: *Pseudomonas* grupo *putida*

Actualmente, el grupo o complejo *P. putida* incluye numerosas especies filogenéticamente muy relacionadas que no son diferenciables por pruebas fenotípicas, secuenciación del gen 16SrARN y MALDITOF-MS. El complejo o grupo *P. putida* incluye: *P. aegrilactucae*, *P. alloputida*, *P. ceruminis*, *P. faucium*, *P. fulva*, *P. huaxiensis*, *P. inefficax*, *P. monteilii*, *P. mosselii*, *P. parasichuanensis*, *P. pérsica*, *P. plecoglossicida*, *P. putida*, *P. reidholzensis*, *P. shirazica*, *P. syncyanea*, *P. urethralis*, *P. wadenswilerensis*.

Los resultados fueron los siguientes:

Participante	Resultado informado	Respuesta y observaciones
1	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
3	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
4	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
5	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
6	<i>P. monteilii</i> (<i>P. grupo putida</i>)	Correcta. (Informar como grupo)
7	<i>P. monteilii</i>	Correcta. (Informar como grupo)
8	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
9	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
11	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
12	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
13	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
14	<i>P. juntendi</i>	Correcta con observaciones (ver detalle en texto)
15	<i>p. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)

16	<i>P. putida</i>	Correcta. (Informar como grupo)
17	<i>P. putida group</i>	Correcta
19	<i>P. aeruginosa</i>	Incorrecta

81% informó *P. putida*. Una especial mención al participante 17 que informó *Pseudomonas* grupo *putida*.

El **laboratorio 6** informa *P. monteilii* identificada por MALDITOF-MS, pero aclara que es *P. grupo putida*. Sin embargo, el **laboratorio 7** informa *P. monteilii* informando un alto score por MALDITOF-MS pero sin informar la diferencia con los score de los siguientes resultados.

El **laboratorio 14** informa *P. juntendi* por MALDITOF-MS y secuenciación del gen 16SrARN. Desconocemos si este resultado fue obtenido por MALDITOF-MS también, pero recordamos que el gen 16SrARN no es la diana adecuada para la identificación de *Pseudomonas* sp.

P. juntendi fue recientemente descrita en 2019 por Tohya y col. y posiblemente forme parte del complejo *P. putida*. Se incluye la cita en la sección Referencias, por si es de su interés observar las relaciones filogenéticas.

NOTA 1: Se considerarán correctos los resultados de los laboratorios 7 y 14 ya que informaron especies pertenecientes al grupo *P. putida*. Sin embargo, **es muy importante unificar la forma de informar resultados**, sobre todo por el impacto en estudios epidemiológicos y estadísticos. La forma correcta de informar en este caso es *Pseudomonas* complejo *putida*.

NOTA 2: Para los laboratorios que han incluido la secuenciación del gen 16SrARN ribosomal como herramienta de identificación, es esencial que lo implementen en el marco de la normal CLSI MM18 (2018).

Les proponemos el siguiente ejercicio:

1- Utilicemos la secuencia del gen 16SrARN (N° acceso Genbank MK680061) de la cepa tipo de *P. juntendi* BML3= DSM 109244= JCM 33395

2-Intentemos comparar esa secuencia mediante el algoritmo BLAST con las secuencias del NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) .

3- El resultado obtenido es el siguiente:

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas entomophila L45 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2774	2774	99%	0.0	99.46%	1526	NR_102864.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas macleodii strain CIP 104833 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2763	2763	98%	0.0	99.54%	1517	NR_024810.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas multidurans strain D3 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2748	2748	99%	0.0	99.06%	1531	NR_157277.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas oryzae strain L-1 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2743	2743	99%	0.0	99.06%	1527	NR_025001.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas entomophila L42 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2739	2739	98%	0.0	99.21%	1515	NR_116336.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas mossarii strain CFM_00-53 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2739	2739	99%	0.0	99.34%	1513	NR_024824.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas fluorescens strain FPC851 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2734	2734	97%	0.0	99.67%	1498	NR_024862.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas aetius strain CH441215 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2730	2730	99%	0.0	98.95%	1526	NR_169422.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas fulvum strain XWS2 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2723	2723	98%	0.0	98.63%	1508	NR_185793.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas macleodii strain CIP 104833 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2719	2719	97%	0.0	99.14%	1503	NR_112073.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas putida strain IAM 5238 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2710	2710	99%	0.0	98.89%	1527	NR_043424.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas dendrobiana strain HYS 16S ribosomal RNA, complete sequence	<i>Pseudomonas</i>	2706	2706	99%	0.0	98.44%	1537	NR_138501.2
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas fluorescens strain IAM1529 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Pseudomonas</i>	2699	2699	99%	0.0	99.49%	1526	NR_115810.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pseudomonas waddenovenerensis strain D2 16S ribosomal RNA, complete sequence	<i>Pseudomonas</i>	2695	2695	99%	0.0	98.31%	1537	NR_157773.1

Como se puede observar, la secuencia de la cepa tipo *P. jurensis* tiene más del 99% de similitud con varias especies de *Pseudomonas*. De esta forma, no es posible confirmar *P. jurensis* como especie de forma inequívoca.

Si utilizamos la base de datos EzBioCloud <https://www.ezbiocloud.net/>, (la cual recomendamos ya que sólo incluye secuencias del gen 16SrARN de cepas de referencia) ; observamos resultados similares:

Tasks	Hit taxon name	Hit strain name	Accession	Similarity	Variation ratio	Hit taxonomy	Completeness (%)
<input type="checkbox"/>	<i>Pseudomonas jurendi</i>	EML3(T)	MK680661	100.00	0/1459	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas	100.0
<input type="checkbox"/>	AE015451_s	KT2440	AE015451	99.86	2/1459	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas	100.0
<input type="checkbox"/>	<i>Pseudomonas asiatica</i>	RYU5(T)	MH4517510	99.79	3/1459	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas	100.0
<input type="checkbox"/>	NEG_s	R17(2017)	NEIG01000002	99.79	3/1459	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas	100.0
<input type="checkbox"/>	<i>Pseudomonas taiwanensis</i>	BCRC 17751(T)	EU103629	99.79	3/1451	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas	99.5
<input type="checkbox"/>	<i>Pseudomonas humanensis</i>	LV(T)	JX545210	99.79	3/1414	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas	97.0
<input type="checkbox"/>	<i>Pseudomonas inefficax</i>	JV551A3(T)	OPYN01000008	99.73	4/1459	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas	100.0
<input type="checkbox"/>	CP026115_s	W5	CP026115	99.73	4/1459	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae;Pseudomonas	100.0

4- En cambio, si realizamos el mismo ejercicio con la secuencia de la cepa tipo de *Comamonas kerstersii* (N° acceso Genbank AJ430347), obtendremos los siguientes resultados:

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Acc Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas kerstersii</i> strain LMG 2425 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas kerstersii</i>	2484	2484	100%	0.0	100.00%	1345	NR_025530.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas terrigena</i> strain NBRC 13220 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas terrigena</i>	2268	2268	100%	0.0	97.18%	1456	NR_113813.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas terrigena</i> strain NBRC 12885 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas terrigena</i>	2268	2268	100%	0.0	97.18%	1456	NR_113597.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas terrigena</i> strain LMG 1253 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas terrigena</i>	2268	2268	100%	0.0	97.10%	1377	NR_114866.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas aquatica</i> subsp. raria strain CW 25 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas aquatica</i> subsp. raria	2257	2257	99%	0.0	97.30%	1387	NR_165757.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas jiangduensis</i> strain YW1 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas jiangduensis</i>	2248	2248	100%	0.0	96.89%	1456	NR_109555.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas aquatica</i> strain LMG 2370 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas aquatica</i>	2237	2237	100%	0.0	96.73%	1345	NR_082131.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas terrigena</i> strain IMI 356020 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas terrigena</i>	2230	2230	100%	0.0	96.66%	1519	NR_028719.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas terrigena</i> strain DSM 7099 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas terrigena</i>	2228	2228	100%	0.0	96.58%	1498	NR_114856.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas ribosolati</i> strain WYH 22-41 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas ribosolati</i>	2228	2228	100%	0.0	96.66%	1490	NR_147728.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas odontotermitis</i> strain Dant 3-8 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas odontotermitis</i>	2165	2165	100%	0.0	96.07%	1453	NR_043859.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas terrae</i> strain A3-3 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas terrae</i>	2176	2176	100%	0.0	95.87%	1487	NR_108509.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas complans</i> strain RF-3 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas complans</i>	2169	2169	100%	0.0	95.95%	1453	NR_117265.1
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Comamonas nitrofurans</i> strain 23310 16S ribosomal RNA, partial sequence	<i>Comamonas nitrofurans</i>	2140	2140	100%	0.0	95.54%	1498	NR_095176.1

Aquí podremos entender porque la utilización de la secuenciación del gen 16SrARN tiene utilidad para la identificación de especie dentro del género *Comamonas*, ya que el porcentaje de similitud de secuencias con la especie más próxima tiene un 3% de diferencia.

El gen 16SrARN es una diana universal pero no presenta la misma resolución a nivel de género y de especie para todos los grupos taxonómicos bacterianos. Por lo tanto, recomendamos que se utilicen los criterios del documento MM18 del CLSI (*Interpretive Criteria for Identification of Bacteria and Fungi by DNA Target Sequencing; Approved Guideline*), cada vez que se informen resultados obtenidos por secuenciación del gen 16SrARN. Con respecto a *Pseudomonas* sp., la norma indica que la secuenciación del gen 16SrARN provee buena resolución a nivel de género y muy limitada resolución a nivel de especie (excepto para *P. aeruginosa*) y sugieren los genes de la subunidad β de la ARN polimerasa (*rpoB*) y/o el gen del ADN girasa B (*gyrB*) para lograr mayor resolución a nivel de especie.

Finalmente, el **laboratorio 19** registró desarrollo positivo a 42° C por lo cual informó incorrectamente como *P. aeruginosa*. Sugerimos controlar las temperaturas de la estufa y/o baño térmico utilizado.

Cepa OPS 287: *Ralstonia insidiosa*

Dos participantes informaron cómo no viable.

De los 14 participantes que informaron resultados de identificación, **93%** (13/14) informaron género correcto y **86 %** (12/14) informaron correctamente género y especie.

Felicitaciones a todos los participantes dado que el género *Ralstonia* a menudo se identifica incorrectamente como *Burkholderia* y *R. insidiosa* es un oportunista infrecuente y de muy difícil identificación.

El laboratorio 13 informó *R. picketti*. La diferenciación entre estas dos especies relacionadas utilizando sólo pruebas manuales es compleja. Recordemos que esta especie fue descrita como *R. picketti*-like. Una prueba útil para la diferenciación es la resistencia a desferroxiamida. (*R. insidiosa* resistente, *R. picketti* sensible). Sin embargo, los discos no están disponibles en todos los países. *R. insidiosa* es generalmente inactiva frente a la glucosa y no asimila arabinosa.

NOTA: Los bacilos gram negativos no fermentadores son un grupo taxonómicamente complejo. Actualmente requieren de tecnología MALDITOF-MS o secuenciación de genes conservados para lograr identificación a nivel de especie, y para algunos géneros (como *Pseudomonas* spp,

Acinetobacter spp. y otros) esta tecnología sólo permite la identificación a nivel de complejo. Por lo tanto, cuando se utilizan sólo pruebas bioquímicas, se recomienda informar a nivel de género.

Cepa OPS 288: Complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus*

94% de los participantes informaron correctamente. Se consideró *A. baumannii* como respuesta correcta, pero reconocemos a los laboratorios 1,3,4,12,13 y 16 que informaron como Complejo.

El complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* incluye las especies: *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. seifertii*, Y *A. dijshoorniae*. La diferenciación precisa de las especies se logra mediante la secuenciación del gen de la subunidad β de la ARN polimerasa (*rpoB*), el gen del ADN girasa B (*gyrB*), por MLST o secuenciación de genoma. Numerosos estudios han demostrado que MALDITOF-MS puede diferenciar correctamente *A. baumannii* y *A. pittii*. La identificación de *A. nosocomialis* aún no es precisa y requiere de un mejoramiento en las bases de datos. Las nuevas especies patógenas, *A. seifertii* y *A. dijshoorniae*, requieren métodos moleculares para su diferenciación.

El participante 11 informó sólo género (*Acinetobacter* sp.)

Cepa OPS 289: *Klebsiella oxytoca*

100 % de los participantes informaron correctamente.

Cepa OPS 290: Complejo *Klebsiella pneumoniae*

100 % de los participantes informaron correctamente.

NOTA: Las nuevas tecnologías de tipificación molecular de cepas basada en la secuenciación del ADN ofreció varias oportunidades para dilucidar la estructura de la población de *K. pneumoniae*. Los miembros del complejo *K. pneumoniae* se distinguieron por primera vez en función de la secuenciación del gen *gyrA* y se designaron como grupo filogenéticos de *K. pneumoniae*. La secuenciación masiva confirmó que estos grupos filogenéticos pueden considerarse especies

distintas. El complejo está formado por las especies *K. pneumoniae*, *K. quasipneumoniae*, *K. variicola*, *K. quasivariicola* y *K. africana*. Algunos estudios han demostrado que MALDITOF-MS puede diferenciar correctamente *K. variicola*.

Bibliografía recomendada:

Becker K. y col. (2019) Implications of identifying the recently defined members of the *Staphylococcus aureus* complex *S. argenteus* and *S. schweitzeri*: a position paper of members of the ESCMID Study Group for Staphylococci and Staphylococcal Diseases (ESGS). Clin Microbiol Infect. 2019 Sep;25(9):1064-1070. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.02.028>

Callejo R. y col (2016) *Streptococcus suis* serotype 2 strains isolated in Argentina (South America) are different from those recovered in North America and present a higher risk for humans. JMM Case Rep.;3(5):e005066. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.005066>

Prieto y col (2022) Manual de Procedimientos: Cocos Gram positivos catalasa negativa. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, ANLIS Dr. C. G. Malbrán, 2022.(ANLIS/INEI/MP-L-ARG;2022) Disponible en: <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/2432>

Revisión de nomenclatura bacteriana

https://drive.google.com/file/d/1APs6hkkUBe3mwkFHJQzmftSZIs1ALXuz/view?usp=share_link

Tohya M. y col (2019) *Pseudomonas juntendi* sp. nov., isolated from patients in Japan and Myanmar. Int J Syst Evol Microbiol.;69(11):3377-3384. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003623>

Vay CA, Almuzara MN. Bacilos gram negativos no fermentadores En: Lopardo HÁ, Predari SC, Vay CA (editores). Parte IIc. Bacilos gram negativos. Capítulo IIc.2. Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología. Buenos Aires, Argentina. AAM, 2021. <https://www.aam.org.ar/download-archivos/BNFFINALAlmuzaraVay.pdf>.

Wesevich A. y col (2020) Newly Named *Klebsiella aerogenes* (formerly *Enterobacter aerogenes*) Is Associated with Poor Clinical Outcomes Relative to Other *Enterobacter* Species in Patients with Bloodstream Infection. J Clin Microbiol.;58(9):e00582-20. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00582-20>

COMENTARIOS SOBRE LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Servicio Antimicrobianos

OPS 281 - *Vibrio vulnificus*

La Cepa **OPS281** correspondía a *Vibrio vulnificus* recuperado de una muestra de herida infectada, de un paciente expuesto al agua de mar.

La cepa se envió liofilizada, pero lamentablemente 6/16 laboratorios no pudieron recuperarla.

Respecto de la sensibilidad, esta cepa presentaba un perfil de sensibilidad a ampicilina, ampicilina/sulbactam, cefotaxima, ciprofloxacina, tetraciclina y trimetoprima/sulfametoxazol.

Los laboratorios participantes no mostraron dificultad para detectar la sensibilidad a los antibióticos ensayados. La concordancia en la interpretación fue del 100% para todos los antibióticos ensayados. Respecto de los halos de inhibición, la mayoría de los laboratorios informaron valores dentro del rango establecido por el LRR para los antibióticos ensayados, con las únicas excepciones de 1/8 para ampicilina/sulbactam, 1/9 para ciprofloxacina y 1/8 para tetraciclina que informaron valores por fuera del rango establecido.

Asimismo, todos los laboratorios informaron correctamente “No aplica” en el mecanismo de resistencia inferido (Tabla 1)

Tabla 1. Cepa OPS 281. Mecanismo de resistencia inferido.

Nº Mecanismo	Mecanismo	Nº Labs	%	Laboratorios
99	No aplica	10	62,5	1, 3, 4, 6, 8, 13, 14, 15, 16, 17
	No viable	6	37,5	5, 7, 9, 11, 12, 19

OPS 282 - *Klebsiella aerogenes*

La Cepa **OPS282** correspondía a *Klebsiella aerogenes* aislada de hemocultivo de un paciente en diálisis continua.

Con respecto a la sensibilidad, esta cepa presentaba un perfil de resistencia inusual a ceftazidima avibactam (CZA), acompañado de aparente sensibilidad a carbapenemes, mediado por la producción de una mutante de KPC (variante alélica KPC-57) (Tabla 2).

Tabla 2. Perfil de sensibilidad de OPS 282

Antibiótico	CIM (mg/L)	Difusión (mm)*
Ceftazidima	> 256	6 - 8
CZA	> 256	6 - 8 [^]
Ceftazidima clavulánico	8	--
Cefotaxima	8	14 - 22
Imipenem	1	20 - 28
Meropenem	0,25	23 - 30
Ertapenem	0,5	20 - 24
Aztreonam	4	--
Aztreonam avibactam	2	--
Ceftolozano Tazobactam	>256	--
Imipenem relebactam	0,5	--
Amoxicilina clavulánico	--	6 - 10

* Rangos de referencia

[^]Discos de carga 10/4 ug

En la Tabla 3 se muestran los genes asociados a resistencia a antimicrobianos obtenidos por secuenciación completa de genoma.

Tabla 3. Resultados de secuenciación completa de genoma de la Cepa OPS 282: genes asociados a resistencia a los antimicrobianos.

Gen	Resistencia asociada
<i>blaKPC-57</i>	Beta-lactámicos = carbapenemes
<i>blaOXA-1</i>	Beta-lactámicos

<i>blaTEM-1</i>	Beta-lactámicos
<i>ampC CMY</i>	Beta-lactámicos
<i>oqxA</i>	ciprofloxacina/cloranfenicol
<i>oqxB</i>	ciprofloxacina/cloranfenicol
<i>qnrB1</i>	ciprofloxacina
<i>dfrA14</i>	trimetoprima
<i>sul1</i>	sulfonamidas
<i>tet(A)</i>	tetraciclina
<i>catB3</i>	cloranfenicol
<i>aac(3)-IId</i>	gentamicina
<i>aac(6')-1b-cr5</i>	Kanamicina-Tobramicina-Amikacina- quinolonas
<i>fosA</i>	fosfomicina

KPC-57 difiere de KPC-2 por una sustitución del ácido aspártico por una valina en la posición 179 (D179V). Este cambio de aminoácido ocurre en una porción de la proteína madura que corresponde al entorno denominado Ω -loop (aminoácidos 164 a 179). Este sitio es de vital importancia para posicionar correctamente a los sustratos frente al sitio activo de la enzima. Como consecuencia de sustituciones, deleciones o inserciones en el Ω -loop, en general KPC ve incrementada su capacidad de unir ceftazidima, provocando un incremento en la hidrólisis de este antibiótico. En la mayoría de las mutantes de KPC, de mediar el fenotipo puro, se observa el efecto “sea-saw” o “sube y baja” donde este incremento de la capacidad hidrolítica sobre ceftazidima, es en desmedro de otros beta lactámicos como los carbapenemes, pudiendo presentar los aislados hasta CIMs semejantes a la de las cepas salvajes (*Papp-Wallace KM, Mack AR, Taracila MA, Bonomo RA. Resistance to Novel β -Lactam- β -Lactamase Inhibitor Combinations: The "Price of Progress". Infect Dis Clin North Am. 2020 Dec;34(4):773-819. doi: 10.1016/j.idc.2020.05.001. Epub 2020 Sep 30. PMID: 33011051; PMCID: PMC7609624*). Esto lleva a que las mutKPC se presenten fenotípicamente como cepas productoras de BLEE: resistencia a una o más cefalosporinas de espectro extendido, inhibición o huevo por ácido clavulánico sobre cefalosporinas (eventualmente huevo CAZ-IMP) y sensibilidad a carbapenemes. Sin embargo, el aislado porta una carbapenemasa de clase A. Por ese motivo, sumado a la emergencia y diseminación en la región de doble

productores de carbapenemasas, durante los últimos años se actualizaron los criterios de tamizaje de Enterobacterales, con la incorporación de CZA como marcador de *screening*. Inicialmente se incorporó CZA a la metodología de discos, pero se irá ampliando su incorporación a los demás métodos en función de su disponibilidad y evaluación en el LRR. Si en su país ya se encuentra disponible la prueba de CZA en el equipo automatizado, capitalice ese resultado para la búsqueda de posibles mutKPC.



La resistencia a CZA en un aislado constituye una señal de alarma para la búsqueda de una carbapenemasa de naturaleza MBL, ya que es el mecanismo de resistencia frente a CZA más prevalente en la región. Algunas MBLs (variantes de IMP o VIM generalmente) pueden cursar con aparente sensibilidad a carbapenemes. OPS 282 no presentó sinergia entre CZA y EDTA (en esta cepa se recomienda evaluar la sinergia con quelantes de Zinc sobre CZA y no sobre carbapenemes ya que es el sustrato más afectado), descartándose la contribución de alguna MBL en la resistencia a CZA observada en OPS282.

Una vez descartada la MBL, se deben evaluar otras posibles causas de resistencia a CZA como a las variantes alélicas/mutantes de KPC (mutKPC), la beta-lactamasa de espectro extendido de tipo PER (Cono Sur de LATAM) e incluso una proporción menor de los

productores de OXA-163 (Argentina, México). Excepcionalmente, algunas variantes de CMY (CMY-16, CMY-172), VEB (VEB-25) o CTX-M (CTX-M-93) o mutaciones en el sitio blanco principal de CZA, PBP-3 (gen *fstI*), pueden generar resistencia a este antimicrobiano.

El diagnóstico diferencial de los principales mecanismos adquiridos de resistencia a CZA es de vital importancia para la búsqueda dirigida de posibles opciones terapéuticas. Tanto la BLEE tipo PER como las mutKPC, son potentes ceftazidimasas, con amplia superposición fenotípica, lo que implica una alta complejidad para el diagnóstico fenotípico diferencial entre estos mecanismos. En la Tabla 4 se resumen las principales características fenotípicas de estos mecanismos de resistencia adquirida a CZA.

Tabla 4. Características fenotípicas de los principales mecanismos de resistencia adquirida a CZA en Enterobacteriales, distintos de MBL.

	KPC+PER	mutKPC (Cepa 3)	PER
Inhibición con APB	Positiva	Positiva (Si la cepa es IMP-S evaluar sinergia CAZ-APB)	Negativa
CZA	R>>S (hetero-R >> homo-R)	R (homo-R)	R>>S (hetero-R >> homo-R)
Aztreonam avibactam (ATM-AVI) ¹	Fenotipo No-salvaje (hetero-R)	Fenotipo Salvaje (excepto, al menos, KPC-41, KPC-44 y KPC-57 que pueden presentar homo-R) ²	Fenotipo No-salvaje (hetero-R)
Ceftolozano tazobactam (C/T)	R ³	R	S >> R (AmpC) ⁴
Huevo IMP-CAZ	Positivo	Positivo	Positivo
Método. Colorimétrico Blue Carba o similares	Positivo	Negativo >> Positivo	Negativo
Inmuno-cromatografía	Positivo KPC	Negativo >> Positivo KPC ⁵ (leer resultados a los 15min y 60min)	Negativo
Carbapenem	R	S, R ⁶	S
IMI-REL	S	S >> R (KPC-44)	S
MER-AVI	S	S	S

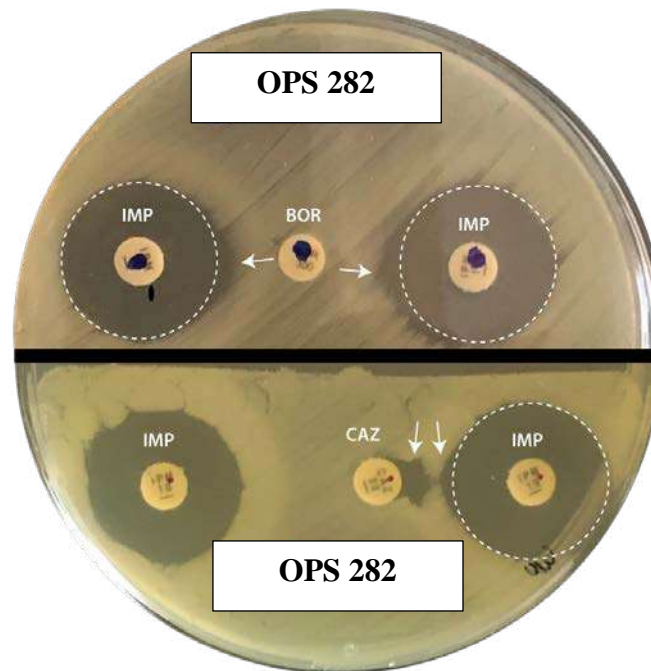
1. ATM-AVI: fenotipo salvaje CIM \leq 1.0 mg/L, fenotipo no-salvaje CIM \geq 2.0 mg/L. Protocolo predifusión rápida: <http://antimicrobianos.com.ar/2021/02/protocolo-predifusion-rapida-aztreonam-avibactam/>. Para la evaluación de la combinación AZT-AVI se utiliza un punto de corte poblacional (salvaje \leq 1 μ g/ml) que sirve para evaluar presencia o ausencia de mecanismo de resistencia, no es un punto de corte clínico. Por esta razón se puede obtener sensibilidad a CZA (sensible \leq 8 μ g/ml) pero fenotipo no-salvaje para la combinación AZT-AVI.
2. No todas las variantes de KPC que confieren resistencia a CZA han publicado estudios cinéticos sobre la eficacia inhibitoria de avibactam y/o resultados frente a ATM-AVI
3. La resistencia a ceftolozano tazobactam esta exclusivamente mediada por KPC. La BLEE tipo PER usualmente es sensible a esta combinación.
4. La hiper-producción de AmpC puede enmascarar la sensibilidad a C/T típica de BLEE tipo PER, en particular en *Enterobacter* spp, principal huésped bacteriano para este tipo de BLEE.
5. Frente a una cepa con resistencia a CZA, se sugiere observar nuevamente el blanco de KPC de las inmuno-cromatografías luego de transcurridos de 60 minutos de su realización debido a cambios en el epitope de reconocimiento de los anticuerpos. Recordamos además que la bibliografía recomienda también extender el tiempo de extracción en el buffer a 15 minutos para mejorar la detección de NDM.
6. En la literatura es habitual observar el fenómeno “sea-saw” referido al incremento de la actividad hidrolítica de las mutKPC frente a CAZ a costa de perder eficiencia catalítica sobre carbapenem, recuperando sensibilidad a imipenem/meropenem/ertapenem. **Merece destacarse que menos de la mitad de las mutKPC detectadas en Argentina cursaron con el fenotipo de sensibilidad a algún carbapenemes, indicando coexistencia de otros mecanismos de resistencias (generalmente déficit de porinas).**

OPS 282 presentó un **resultado negativo** para la mayoría de las pruebas confirmatorias para la búsqueda de **actividad de carbapenemasa**, incluido Blue-Carba, Carba-NP Direct

y mCIM. Las inmunocromatografías laterales también resultaron negativas para KPC, incluso con lecturas a la hora. **Sólo el THT mostró un resultado positivo débil frente a carbapenemes.**

La prueba automatizada CPO Detect Test presentó un resultado positivo, sin embargo, KPC-57 fue clasificada incorrectamente como carbapenemasa de Clase B en este ensayo.

Figura 1. Sinergia entre discos de APB e imipenem y huevo IMP-CAZ.



En la **Figura 1** se puede observar que **OPS 282** mostró sinergia entre discos de APB e imipenem (colocados a 20 mm de separación). Con respecto a esta prueba fenotípica, no siempre se observa la inhibición de APB sobre carbapenemes, en especial cuando presenta sensibilidad a estos agentes. Muchas veces requiere que se repita evaluando discos de borónico frente a ceftazidima, donde se observan resultados más consistentemente positivos. En la Figura 1 se puede observar una leve sinergia entre APB e imipenem y huevo entre IMP y CAZ.

Las pruebas moleculares como PCR deberían detectar correctamente este gen. Se sugiere a los laboratorios que desarrollaron pruebas *in house*, revisar el diseño de los cebadores. Entre los métodos comerciales, Biofire-Filmarray fue capaz de detectar correctamente la especie bacteriana y la presencia de KPC.

La capacidad inhibitoria del avibactam en general no se ve afectada en las variantes alélicas de KPC, sin embargo, en la concentración evaluada en las pruebas de sensibilidad (o utilizada in vivo) no logra revertir el alto nivel de resistencia a ceftazidima que caracteriza a estas mutantes de KPC (ceftazidimasas). Por ese motivo cursan con la resistencia fenotípica a CZA. KPC-57 es una excepción en este aspecto, donde además de verse incrementada la hidrólisis de ceftazidima, se acompaña con la pérdida de la capacidad inhibitoria del avibactam. Se puede observar que el agregado de avibactam no restauró la sensibilidad a aztreonam (utilizando puntos de corte de epidemiológicos de fenotipo Salvaje de ≤ 1 mg/L) o no provoca disminuciones significativas (> 2 dils) en la CIMs de imipenem o meropenem (no mostrado) tanto en la cepa clínica como en transconjugantes obtenidos en el LNR.

KPC-57 fue descrita por primera vez en Grecia en un paciente previamente tratado con CZA (*Galani I et al. Emergence of ceftazidime-avibactam resistance through distinct genomic adaptations in KPC-2-producing Klebsiella pneumoniae of sequence type 39 during treatment. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2021 40(1):219-24. doi: 10.1007/s10096-020-04000-9. Epub 2020 Jul 30. PMID: 32729059*). En Argentina, KPC-57 se recuperó también de un paciente con antecedentes de tratamiento con CZA (*Pasteran F y cols, ECCMID 2022*). Merece destacarse que estas mutaciones sobre el gen estructural de KPC son estables y puede ocurrir la transmisión paciente-paciente y/o diseminación inter-hospitalaria, por lo que el antecedente de tratamiento con CZA no estará siempre presente.

El tratamiento clínico de las mutantes de KPC resulta un desafío para el equipo médico. Recomendaciones de expertos sugieren evitar el tratamiento en monoterapia con carbapenémicos, independientemente de su sensibilidad *in vitro* (*Cano Á et al. Use of carbapenems in the combined treatment of emerging ceftazidime/avibactam-resistant and carbapenem-susceptible KPC-producing Klebsiella pneumoniae infections: Report of a case and review of the literature. J Glob Antimicrob Resist. 2020 22:9-12. doi: 10.1016/j.jgar.2019.11.007*). Recientemente, se publicó la falla de tratamiento con imipenem en un paciente cursando una infección respiratoria por un germen productor de KPC-33 (sustitución D197Y de KPC-2 seleccionado intra-tratamiento con CZA) con una CIM imipenem de 0,06 mg/L (*Wang C et al. In vivo Selection of Imipenem Resistance*

Among Ceftazidime-Avibactam-Resistant, Imipenem-Susceptible Klebsiella pneumoniae Isolate With KPC-33 Carbapenemase. Front Microbiol. 2021 23; 12:727946. doi: 10.3389/fmicb.2021.727946). Para evitar estas posibles fallas terapéuticas, recomendamos buscar activamente las mutKPC, utilizando la prueba de sensibilidad a CZA como tamizaje. El uso de biterapia que incluya un carbapenem también tiene que ser considerado como último recurso terapéutico. Se recomienda el uso de carbapenemes con el agregado de los nuevos inhibidores, como meropenem vaborbactam (M/V) o imipenem relebactam (IMR).

Para definir el uso de terapia combinada con estos agentes u otros no-beta lactámicos, estos expertos sugieren utilizar los scores de severidad (INCREMENT) de su misma autoría. En la literatura se pueden encontrar distintos casos reportados de rescate de infecciones por mutKPC utilizando M/V o IMR (*Athans V et al. Meropenem-Vaborbactam as Salvage Therapy for Ceftazidime-Avibactam-Resistant Klebsiella pneumoniae Bacteremia and Abscess in a Liver Transplant Recipient. Antimicrob Agents Chemother. 2018 21;63(1):e01551-18. doi: 10.1128/AAC.01551-18. Tiseo G et al. Meropenem-Vaborbactam as Salvage Therapy for Ceftazidime-Avibactam, Cefiderocol-Resistant ST-512 Klebsiella pneumoniae-Producing KPC-31, a D179Y Variant of KPC-3. Open Forum Infect Dis. 2021 20;8(6):ofab141. doi: 10.1093/ofid/ofab141.. Shields RK et al. Early Experience with Meropenem-Vaborbactam for Treatment of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae Infections. Clin Infect Dis. 2020 27;71(3):667-671. doi: 10.1093/cid/ciz1131. Erratum in: Clin Infect Dis. 2020 3;70(6):1265).*

En la presente encuesta, los 16 laboratorios participantes pudieron recuperar esta cepa. En esta oportunidad no se calificó la categoría reportada por los participantes para imipenem y meropenem. La resistencia a ceftazidima fue reportada correctamente por 15/16 laboratorios, y 14/16 informaron halos de inhibición comprendidos en el rango establecido por el LRR. Amicacina presentaba sensibilidad borderline con CIMs 8/16 µg/ml (S), rango de halos 15-21mm (I-S) y media de halos de 18mm (S) a pesar de la presencia de la enzima *aac(6')-1b-cr5*. Se consideraron como interpretaciones correctas para Amicacina las categorías Sensible o Intermedio, las cuales fueron reportadas correctamente por 14/16 de los LNRs.

Respecto de la sensibilidad a ceftazidima/avibactam, como lo comentamos en la encuesta previa, en la Argentina los discos de ceftazidima/avibactam se comercializan con dos cargas distintas: carga CLSI 30/20µg, y carga EUCAST 10/4µg. **Desde el LRR recomendamos el uso de los discos de ceftazidima/avibactam con carga EUCAST 10/4µg.** Esta preferencia se basa en estudios de correlación realizados en el LRR (*Pasteran F. y col. P2779-29th ECCMID, 2019*) donde se observó que los discos de carga CLSI 30/20 µg presentan una alta proporción de errores mayores (falsa resistencia) y muy mayores (falsa sensibilidad) en comparación con los discos con carga EUCAST 10/4µg.

En la presente encuesta, 12/13 laboratorios reportaron correctamente la cepa como resistente a ceftazidima/avibactam, aunque solo dos LNR (Laboratorios 6 y 7) ensayaron los discos con carga EUCAST 10/4µg. Cinco laboratorios (Laboratorios 1, 9, 13, 14 y 17) ensayaron discos de carga CLSI 30/20µg y seis laboratorios ensayaron la sensibilidad a ceftazidima/avibactam por dilución.

La sensibilidad a colistín fue reportada correctamente por 10/13 laboratorios.

Con respecto al ítem “Mecanismo de resistencia inferido”, en la tabla 5 se detallan las respuestas de cada laboratorio.

Tabla 5. Cepa OPS 282. Mecanismo de resistencia inferido.

N° Mecanismo	Mecanismo	Nº Labs	%	Laboratorios
5 + 12 + 37 + 38	BLEE + Carbapenemasa tipo KPC + R CZA + R C/T	1	6,3	8
5 + 12 + 37	BLEE + Carbapenemasa tipo KPC + R CZA	1	6,3	17
12	Carbapenemasa tipo KPC	1	6,3	6
5 + 12	BLEE + Carbapenemasa tipo KPC	1	6,3	9
5	BLEE	1	6,3	3
5 + 37 + 38	BLEE + R CZA + R C/T	2	12,5	13, 15
6	BLEE + IMPERMEABILIDAD	2	12,5	5, 12
4 + 12 + 37	AMPC+ IMPERMEABILIDAD + Carbapenemasa tipo KPC + R CZA	1	6,3	7
9 + 37 + 38	BLEE+ IMPERMEABILIDAD + R CZA + R C/T	1	6,3	4
5 + 6 + 37	BLEE + BLEE+ IMPERMEABILIDAD + R CZA	1	6,3	11
2	Derrepresion de AmpC	2	12,5	14, 16
2 + 11	Derrepresion de AmpC + Resistencia no enzimatica a carbapenemes	1	6,3	1
32	Resistencia a polimixinas	1	6,3	19

El mecanismo totalmente correcto sería: **“CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR APB (KPC, otras) + R a ceftazidima/avibactam”**, pero debido a que la cepa presentaba alta complejidad para el diagnóstico fenotípico diferencial, en esta oportunidad, el LRR consideró como válidas todas las respuestas a excepción de la derrepresión de AMPc.

La cepa presentaba resistencia a ceftolozano/tazobactam, en el caso que se hubiera tratado solo de una BLEE, si se ensayaba esta combinación, se hubiese observado un resultado de sensibilidad. Del mismo modo, si la cepa hubiera presentado “impermeabilidad”, los carbapenemes se hubieran visto afectados.

OPS 283 - *Streptococcus suis*

La cepa **OPS 283** correspondía a un ***Streptococcus suis*** recuperado de líquido cefaloraquídeo de un paciente con meningitis.

Streptococcus suis es un importante patógeno porcino en todo el mundo y puede transmitirse a los seres humanos por contacto directo con cerdos enfermos o portadores. *S. suis* causa meningitis, septicemia, endocarditis, artritis y shock séptico tanto en cerdos como en humanos, y la mortalidad es alta. La infección humana por *S. suis* ocurre principalmente en ciertos grupos de riesgo frecuentemente expuestos a los cerdos o la carne de cerdo.

El primer caso de infección humana por *S. suis* se describió en Dinamarca en 1968, y se reportaron casos esporádicos en muchos países que tienen una industria porcina intensiva, principalmente en el norte de Europa y Asia. También se produjeron varios brotes de infección humana en China.

En cuanto a la resistencia a los antibióticos, *S. suis* por lo general presenta sensibilidad a penicilina, ampicilina, amoxicilina y ceftriaxona, aunque se han aislado cepas resistentes a la penicilina y a otros antibióticos de uso común.

La cepa enviada presentaba sensibilidad a penicilina (CIM 0.03µg/ml) y a cefotaxima (CIM 0.06 µg/ml). Tres laboratorios no pudieron recuperar el aislado, y los demás 13/16 (81%) informaron correctamente como sensibles ambos antibióticos.

En la tabla 6 se pueden ver los valores de CIM informados por los LNRs. En negrita se pueden observar los valores de CIM informados por los LNR cuyo resultado coincide con el valor establecido por el LNR +/- 1 dil, que fueron 11/13 para penicilina y cefotaxima.

Tabla 6. Cepa OPS 283. CIMs a penicilina y cefotaxima informados por los LNRs

Laboratorio	PEN (CIM)		CTX (CIM)	
1	0,032	S	0,047	S
3	<=0,06	S	<=1	S
4	0,06	S	0,5	S
5	No viable			
6	0,032	S	0,032	S
7	0,064	S	0,094	S
8	0,032	S	ND	
9	0,06	S	0,06	S
11	No viable			
12	No viable			
13	0,125	S	0,047	S
14	0,03	S	0,03	S
15	0,032	S	0,032	S
16	<=0,06	S	0,25	S
17	0,06	S	ND	
19	0,125	S	0,125	S

ND: no determinada

Respecto del mecanismo inferido, los 13 laboratorios que pudieron recuperar la cepa informaron correctamente "No aplica" (Tabla 7).

Tabla 7. Cepa OPS 283. Mecanismo de resistencia inferido.

N° Mecanismo	Mecanismo	N° Labs	%	Laboratorios
99	No aplica	13	100	1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 16, 17, 19
	No viable	3		5, 11, 12

OPS 284 - *Comamonas kerstersii*

La cepa **OPS 284** correspondía a una *Comamonas kerstersii* aislada de líquido intraabdominal de un paciente con apendicitis, y fue enviada solo para identificación.

OPS 285 – *Staphylococcus aureus*

La cepa **OPS 285** se trataba de un *Staphylococcus aureus* recuperado de punción de piel y partes blandas de un paciente trabajador rural con una herida infectada en un brazo. El mismo aislamiento se recuperó de hisopado nasal de porcinos de la granja de cría intensiva donde el trabajador desempeñaba sus tareas.

Se trataba de un *S. aureus* meticilino-resistente asociado al ganado (LA-MRSA) con SCCmec tipo V, PVL negativo, que pertenece al ST9 del CC1 MRSA, un frecuente colonizante del ganado porcino, detectado previamente en distintos países de Europa. Además, el CC1, es un linaje exitoso asociado con infecciones humanas, que incluye CA-MRSA PVL positivo, también conocido como USA400 frecuentemente aislado de infecciones invasivas humanas en Estados Unidos y Canadá, tanto en MSSA como MRSA. Esta cepa presentaba resistencia a meticilina, penicilina, ciprofloxacina, gentamicina, cloranfenicol y tetraciclina, y sensibilidad a eritromicina, clindamicina, trimetoprima/sulfametoxazol, nitrofuranos, linezolid y vancomicina.

En la Tabla 8 se muestran los genes asociados a resistencia a antimicrobianos obtenidos por secuenciación completa de genoma.

Tabla 8. Resultados de secuenciación completa de genoma de la Cepa OPS 285: genes asociados a resistencia a los antimicrobianos.

Gen	Resistencia asociada
<i>blaZ</i>	Beta-lactámicos
<i>mecA</i>	Meticilina
<i>aac(6')-aph(2'')</i>	Gentamicina
<i>fexA</i>	Cloranfenicol
<i>tet(L)</i>	Tetraciclina
<i>gyrA</i> (S84L), <i>griA</i> (S80F)	Ciprofloxacina

Los 16 laboratorios participantes informaron correctamente las categorías de interpretación de todos los antibióticos, excepto gentamicina que fue informada como resistente por 12/15 laboratorios. Los halos de inhibición informados por los LNRs estuvieron dentro del rango establecido por el LRR para todos los antibióticos, excepto 3/15 para cefoxitina, 1/14 eritromicina y 2/13 gentamicina.

El ítem mecanismo de resistencia inferido fue respondido correctamente por la totalidad de los laboratorios participantes, como se muestra en la tabla 9.

Uno de los laboratorios informó además resistencia a lincosamidas, mediado por la enzima lincosaminoadenilasa, sin embargo el gen *Inu* no fue detectado por ResFinder en

el genoma y el asilamiento presentaba halos de inhibición de 27 y 28mm para clindamicina y lincomicina, respectivamente, ambos en la categoría sensible.

Tabla 9. Cepa OPS 285. Mecanismo de resistencia inferido.

N° Mecanismo	Mecanismo	N° Labs	%	Laboratorios
16	Meticilino Resistencia	16	100,0	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19

OPS 286 - *Pseudomonas putida*

La cepa **OPS 286** corresponde a una *Pseudomonas putida* aislada de hemocultivo de un paciente con bacteriemia asociada a catéter.

P. putida es un patógeno principalmente ambiental y puede encontrarse en distintos nichos que incluyen el suelo, el agua, las superficies y los animales. Aunque no es un patógeno muy habitual en infecciones humanas, se lo asocia con mayor frecuencia a infecciones de pacientes inmunocomprometidos. Este patógeno ha sido propuesto recientemente como uno de los principales reservorios de genes de metalo- β -lactamasas a nivel hospitalario. *P. putida* presenta un perfil de resistencia natural similar al de *Pseudomonas aeruginosa*, acompañado de sensibilidad disminuida a meropenem, de naturaleza no enzimática.

El aislamiento enviado en la presente encuesta posee dos carbapenemasas: una serin-carbapenemasa **KPC-2** y una metalo- β -lactamasa de la familia **VIM-2**.

En las últimas décadas se ha demostrado la emergencia y diseminación de cepas de bacilos gram negativos productores de carbapenemasas tipo MBL en diferentes partes del mundo. *P. aeruginosa*, continúa siendo el huésped bacteriano más frecuentemente asociado a MBL a nivel mundial, sólo amenazado en los últimos años por la dispersión de NDM en múltiples especies de Enterobacterales. Los primeros hallazgos de MBL en *P. aeruginosa* provienen de Japón (Wantabe, 1991) y Verona, Italia (Laurenti, AAC 1999), para enzimas de tipo IMP y VIM respectivamente. Dentro de la familia VIM, el alelo más frecuentemente aislado a nivel mundial es VIM-2.

Al igual que el resto de las MBL, VIM tiene la capacidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de todas las generaciones y carbapenemes. Los únicos sustratos no afectados por este tipo de enzimas son los monobactames como el aztreonam.

Las enzimas de la familia MBL pertenecen a la clase molecular 3b de la clasificación de Karen Bush. De manera distintiva, las MBLs requieren de metales divalentes (Zn^{2+}) en su sitio activo, indispensable para su capacidad hidrolítica. Es por ello que en presencia de EDTA u otros quelantes de metales divalentes, como la combinación de EDTA+SMA (ácido etilendiaminotetraacético/mercaptoacetato de sodio), estas enzimas presentan una inhibición característica.

En *P. putida*, el primer reporte de MBL corresponde a IMP-1 en un aislamiento de Japón en 1996 (Senda, JCM 1996) y posteriormente en Europa se describió *P. putida* con IMP-12 (Docquier, AAC 2003). VIM-1 fue reportada en *P. putida* en Europa (Lombardi, JCM 2002) y posteriormente VIM-2 en Taiwan, Corea, Japón y Francia (Lee, AAC 2002; Poirel, AAC 2006). En Latinoamérica, el primer reporte de *P. putida* productor de VIM-2 corresponde a dos aislamientos de Argentina (Almuzara, EID 2007).

En los últimos años se describieron en todo el mundo numerosos casos de *P. putida* productora de MBL de tipo VIM, no asociado a un único clon, si no como aislamientos no genéticamente relacionados, sugiriendo la presencia de un elemento móvil portando el gen *bla*_{VIM} con alta capacidad de diseminación horizontal y reafirmando la noción de que este patógeno sería un potencial reservorio de MBLs y otros genes de resistencia.

Las carbapenemasas de tipo KPC, fueron originalmente descritas en *Klebsiella pneumoniae* en 2001 (Yigit, AAC 2001) y posteriormente en otras especies de Enterobacterales. En 2007, se describió la emergencia de este mecanismo en *P. aeruginosa* en Colombia (Villegas, AAC 2007) y posteriormente en aislamientos de otros países, inclusive en varios países de la región como Puerto Rico, Brasil y Argentina. El primer reporte de KPC-2 en *P. putida* fue en Texas en un paciente coinfectado con *E. cloacae* también productor de KPC-2 (Bennet, AAC 2009).

La combinación de mecanismos fue primeramente descrito en enterobacterales y luego en aislamientos de bacilos no fermentadores como *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. Como ejemplos podemos mencionar: *P. aeruginosa* VIM-2 y KPC-2 en Colombia y Chile; y *P. aeruginosa* IMP-18 y KPC-2 en Puerto Rico.

Si bien las pruebas de sensibilidad por difusión con discos no están estandarizadas en CLSI para *P. putida*, el uso de esta metodología resulta sumamente efectiva para la búsqueda de carbapenemasas de tipo MBL en aislamientos sospechosos multiresistentes realizando sinergia con EDTA/SMA.

En el caso de *P. putida* OPS-286 aislamiento enviado en la presente encuesta, la sumatoria de mecanismos afectó el desempeño de los métodos de tamizaje permitiendo que se evidencie uno u otro mecanismo dependiendo de la metodología. En la tabla 10 están detallados los métodos y los resultados obtenidos en el LNR.

Tabla 10. Cepa OPS 286. Metodología usada para detección de carbapenemasas y resultados obtenidos en el LNR

Metodología	Resultado	Interpretación
CIM Imipenem*	>8 µg/ml	Resistente
CIM Meropenem*	>8 µg/ml	Resistente
Sinergia IMP-EDTA-MER	Negativo	MBL Negativo
Discos combinados DCM-BRIT	Positivo MER/MER-EDTA	MBL Positivo
Triton-Hodge Test MER	Positivo	Carbapenemasa positivo
BlueCarba/CarbaNP-direct**	Positivo	Carbapenemasa positivo
mCIM	06mm (sin halo)	Carbapenemasa positivo
Δ eCIM-mCIM	06mm	Serin Carbapenemasa
PCR Carbapenemasas	KPC+, VIM+	

*CIM por Microscan y Phoenix.

** Positivo dentro de los primeros 60min de incubación.

Todas las metodologías diseñadas para el screening de carbapenemasas (THT-MER, BlueCarba, CarbaNP-direct, mCIM) dieron positivas sin dificultad, por lo que la presencia de una carbapenemasa adquirida en este aislado no generaba dudas. Las metodologías capaces de discriminar el tipo de carbapenemasa, como ser los discos combinados con meropenem como el DCM-BRIT, la sinergia con EDTA y la combinación de resultados del mCIM/eCIM arrojaron resultados discordantes: MBL y serin-carbapenemasa, respectivamente.

El aislado presentaba alto nivel de resistencia a aztreonam (6mm, >8 µg/ml). Este resultado podía orientar hacia la producción de carbapenemasa tipo KPC que hidroliza eficientemente a esta droga. La otra posibilidad sería que el aislamiento fuese productor de varios mecanismos de resistencia como ser MBL+BLEE o MBL+KPC.

Los 16 laboratorios que participaron informaron correctamente la resistencia a imipenem y meropenem en esta cepa, con valores dentro del halo de inhibición esperado en los 10 laboratorios que usaron método de difusión para ambas drogas.

Respecto del mecanismo inferido, las respuestas totalmente correctas son “Carbapenemasa tipo KPC + Carbapenemasa tipo NDM” y “KPC + Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL)”, que fueron respondidas por el 62.5% (10/16) de los LNRs. Debido a la dificultad que presenta la detección de estos mecanismos combinados descripta más arriba, en esta oportunidad se consideraron también correctas las respuestas: “Carbapenemasa” y “MBL”. Tomando en cuenta esta consideración, el ítem fue respondido correctamente por 14/16 LNRs (87.5%) (Tabla 11).

Tabla 11. Cepa OPS 286. Mecanismo de resistencia inferido.

N° Mecanismo	Mecanismo	N° Labs	%	Laboratorios
12 + 9	KPC + Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL)	9	56,3	3, 6, 7, 8, 9, 11, 14, 15, 17
12 + 14	Carbapenemasa tipo KPC + Carbapenemasa tipo NDM	1	6,3	4
7	Carbapenemasa	3	18,8	5, 12, 16
9	MBL (VIM)	1	6,3	13
11	Resistencia no enzimática a carbapenemes	1	6,3	19
99	No aplica	1	6,3	1

OPS 287 - *Ralstonia incidiosa*

La cepa **OPS 287** correspondía a una *Ralstonia incidiosa* aislada de hemocultivo de un paciente en hemodiálisis con bacteriemia asociada a catéter, y fue enviada solo para identificación.

OPS 288 – *Acinetobacter baumannii*

La cepa **OPS 288** correspondía a un *Acinetobacter baumannii* aislado de miniBal de un paciente con neumonía asociada a ventilación mecánica.

A. baumannii desde hace varias décadas se ha instalado como un importante agente de infecciones hospitalarias severas. Es un frecuente agente de neumonía nosocomial, infecciones del torrente sanguíneo, del tracto urinario, heridas e infecciones de piel y partes blandas en pacientes quemados, entre otras. La habilidad para sobrevivir en ambientes secos y húmedos, la resistencia a antibióticos y desinfectantes y la capacidad de formar *biofilms* favorecen su persistencia en superficies y dispositivos médicos, por lo que lo convierten en una amenaza para pacientes inmunosuprimidos. Una de las principales preocupaciones en la clínica es la capacidad de *A. baumannii* de adquirir

resistencia a múltiples antimicrobianos, principalmente a carbapenemes, por lo que complica la elección de un tratamiento efectivo.

El porcentaje de resistencia de *A. baumannii* a carbapenemes en Latinoamérica es uno de los más altos a nivel global. Con variaciones entre los distintos países (1-90%) con los valores más bajos en América Central y los mayores en Argentina y Brasil. Datos de RELAVRA (Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos) muestran un incremento en la resistencia a carbapenemes del 1-86% en 2011 a 33-98% en 2019.

La cepa en estudio, **OPS 288** presenta una **carbapenemasa del tipo metalo-β-lactamasa (MBL)** caracterizada como **New Delhi metalo-beta-lactamasa (NDM-1)** y una **β-lactamasa de espectro extendido blaPER-7**. Presenta resistencia a ampicilina-sulbactam, ceftazidima, cefepime, imipenem y amikacina, y sensibilidad a minociclina y colistín (Tabla 11).

Tabla 11. Resultados de sensibilidad de OPS 288 por las distintas metodologías disponibles:

	Difusión discos (mm)	Phoenix (µg/ml)	Sensititre (µg/ml)	Interpretación
Ceftazidima	06	>16	>32	R
Imipenem	06	>8	>8	R
Cefepime	06	>16	>16	R
Ampicilina/sulbactam	06	>16	>16	R
Amikacina	06	>32	>32	R
Minociclina	19-29	-	≤4	S
Colistín	-	≤1*	≤1	S

*NOTA: Vitek2C y Phoenix NO son metodologías aceptadas para evaluar la sensibilidad a colistín. Se debe recordar que estos métodos automatizados, así como la difusión con discos y los métodos epsilométricos no son métodos recomendados para informar la sensibilidad a colistín. CLSI y EUCAST recomiendan la microdilución en caldo como método de referencia. Recientemente CLSI recomendó la elusión con discos de colistin y el agar spot como metodologías aceptadas para Enterobacterales y *Pseudomonas* spp.

Luego de diversos estudios, el Laboratorio Regional de Referencia publicó sus propias recomendaciones agregando otras metodologías como el “Colistin Drop-test” y la “Predifusión con tabletas de colistín” haciendo extensivo su uso a *Acinetobacter* spp. Ver documento en el siguiente link

<http://antimicrobianos.com.ar/2017/09/protocolos-colistin/>

Todos los LNRs informaron correctamente la categoría de interpretación de imipenem, ceftazidima, cefepime y ampicacina. Para los demás antibióticos ensayados fueron reportadas correctamente las categorías de interpretación de 15/16 ampicilina/sulbactam, 14/16 minociclina y 10/12 colistín.

Respecto de los halos de inhibición, todos los LNRs que realizaron método de difusión informaron halos dentro del rango establecido por el LRR para ceftazidima, cefepime y ampicacina, 13/14 para ampicilina/sulbactam, 11/14 para imipenem y 8/10 para minociclina.

Pruebas fenotípicas adicionales:

- Colistín Drop Test: presencia de halo (Sensible a colistín)
- Sinergia IMP-EDTA-MER: Positiva
- Blue-Carba-Test: Positivo (dentro de la primera hora)
- CARBA-NP DIRECT: Positivo (dentro de la primera hora)

La sinergia entre los discos de IMP-EDTA-MER es indicativo de la presencia de una metalobetalactamasa. La actividad carbapenemasa fue confirmada con los métodos de **Blue-Carba-Test** (Ensayo colorimétrico rápido para la búsqueda de carbapenemasas basado en la hidrólisis de IMP, adaptado de *Pires J. y col., J Clin Microbiol. 2013; 51: 4281-3. Pasteran F. y col., J Clin Microbiol. 2015; 53: 1996-8-* <http://antimicrobianos.com.ar/2014/10/protocolo-de-blue-carba/>) y **CARBA-NP DIRECT** (Detección rápida de carbapenemasas directo de placas de cultivo, adaptado de *Pasteran F. y col. J Clin Microbiol. 2015; 53(12): 3908-11.2.* <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2015/12/CARBA-NP-DIRECT-v3-21.pdf>. **Recordar que para la búsqueda de carbapenemasas tipo MBL en**

***Acinetobacter* spp., los métodos colorimétricos Blue-Carba-Test y CARBA-NP DIRECT deben leerse e interpretarse dentro de la 1er. hora de incubación.**

Los resultados de los estudios de PCR y secuenciación muestran que la cepa **OPS 288** presenta los genes ***bla*NDM-1** y ***bla*PER-7**, y pertenece al secuenciotipo ST25. Se obtuvieron resultados negativos para los genes *bla*VIM, *bla*IMP, *bla*SPM, *bla*KPC, *bla*OXA-23, *bla*OXA-24/40, *bla*OXA-48, *bla*OXA-58, *bla*OXA-143, *bla*CTX-M, *bla*SHV y *bla*TEM.

La resistencia a carbapenemes en esta especie se asocia a la producción de carbapenemasas adquiridas. Las más frecuentes son las de clase D (carbapenemasas del tipo OXA) seguidas por las metalobetalactamasas (MBL) como IMP, VIM y NDM. Las carbapenemasas del tipo OXA exhiben débil actividad sobre los carbapenemes sin embargo pueden conferir resistencia cuando se suma la impermeabilidad y la presencia de secuencias de inserción (ISAba) río arriba del gen. OXA-51 es una carbapenemasa constitutiva y mayormente cromosómica en *A. baumannii* y es usada como marcador de especie. Sin embargo, el gen *bla*OXA-51, también fue encontrado en plásmidos en *Acinetobacter* no-*baumannii*. OXA-23 es la carbapenemasa adquirida más diseminada en Latino América en *A. baumannii* resistentes a los carbapenemes, seguida por OXA-58 y en menor medida, nuevas variantes como OXA-72, OXA-143 y OXA-235.

Las carbapenemasas del tipo MBL se encontraban en forma esporádica en esta especie. Los primeros aislamientos reportados en la región fueron productores de IMP, pero en los últimos años se ha visto un marcado aumento de NDM. Si bien NDM se ha diseminado globalmente a expensas de *K. pneumoniae* y *E. coli*, *Acinetobacter* spp. es reconocido como un reservorio intermediario de los genes de resistencia *bla*NDM-1. En Argentina, la diseminación de NDM en *A. baumannii* es un fenómeno reciente, a expensas del ST25. El aislado OPS 288 pertenece a este ST y presenta el gen *bla*NDM-1 localizado en el transpón *Tn*125 insertado en el cromosoma. También presenta una isla de genes de resistencia donde se localiza el gen que codifica para la BLEE PER-7, genes de resistencia a aminoglucósidos (*armA*), a rifampicina (*arr*) y a fosfomicina (GST).

La búsqueda de carbapenemasas del tipo MBL en *A. baumannii*, debe ser un punto importante en el diagnóstico del laboratorio, debido a su aumento exponencial y la oportunidad de contener su diseminación tanto en *Acinetobacter* spp. como en otras

especies. La implementación de la sinergia con EDTA y el Blue CARBA o el CARBA NP direct (leídos entre 30 y 60 minutos) son una herramienta importante para diferenciar los productores de MBL de los productores de carbapenemasas del tipo OXA (que por lo general dan resultados positivos a partir de los 60 minutos).

Respecto al “Mecanismo de resistencia inferido”, la respuesta que se consideró totalmente correcta es “**Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL)**”. El 75% (12/16) de los LNRs informaron correctamente “Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL)” o “Carbapenemasa tipo NDM”. Dos LNRs (Lab. 13 y 16) informaron “Carbapenemasa”, respuesta que también fue considerada correcta (Tabla 12). Un laboratorio detectó la “Carbapenemasa tipo NDM”, pero también seleccionó “Carbapenemasa tipo KPC”, por lo que la respuesta se consideró incorrecta.

Tabla 12. Cepa OPS 288: Mecanismo de resistencia inferido.

N° Mecanismo	Mecanismo	N° Labs	%	Laboratorios
9	Carbapenemasa inhibible por EDTA	4	25,0	1, 5, 12, 19
14	Carbapenemasa tipo NDM	6	37,5	3, 7, 8, 9, 14, 15
9+14	Carbapenemasa inhibible por EDTA + Carbapenemasa tipo NDM	2	12,5	4, 17
7	Carbapenemasa	2	12,5	13, 16
10	Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL) + BLEE	1	6,3	6
9+12+14	Carbapenemasa inhibible por EDTA + Carbapenemasa tipo KPC + Carbapenemasa tipo NDM	1	6,3	11

Dos laboratorios detectaron por PCR la presencia del gen *blaOXA-51*, que codifica para una carbapenemasa intrínseca de *Acinetobacter baumannii*.

Bibliografía:

- Adams MD, Pasteran F, Traglia GM, Martinez J, Huang F, Liu C, et al. Distinct mechanisms of dissemination of NDM-1 metallo-β-lactamase in *Acinetobacter* spp. In Argentina. *Antimicrob Agents Chemother* 2020;64:e00324–20.
- Rodriguez CH, Nastro M, Famiglietti A. Carbapenemasas in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Rev Argent Microbiol* 2018;50:327–33.
- Ramirez MS, Bonomo RA, Tolmasky ME. Carbapenemasas: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. *Biomolecules* 2020; 10, 720.

OPS 289 - *Klebsiella oxytoca*

La Cepa **OPS 289** correspondía a ***Klebsiella oxytoca*** aislada de hemocultivo de un paciente con bacteriemia asociada a catéter.

Con respecto a la sensibilidad, **esta cepa presentaba un perfil de resistencia inusual, sugerente de la adquisición de una carbapenemasa de clase A KPC-2 pero acompañado de resistencia a ceftazidima/avibactam (CZA), mediado por la coproducción de una beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) PER-2 (Tabla 13).**

Tabla 13: Resultados de secuenciación completa de genoma de la Cepa OPS 289: genes relacionados a mecanismos de resistencia a los antimicrobianos.

Gen	Clasificación	Resistencia asociada
<i>blaKPC-2</i>	Carbapenemasa clase A	Beta-lactámicos = carbapenemes
<i>blaPER-2</i>	Beta-lactamasa espectro extendido clase A	Beta-lactámicos = cefalosporinas de espectro extendido
<i>blaTEM</i>	Beta-lactamasa clase A	Beta-lactámicos = aminopenicilinas
<i>blaOXY-1</i>	Beta-lactamasa de espectro extendido clase A (cromosómica <i>K. oxytoca</i>)	Beta-lactámicos = cefalosporinas de espectro extendido
<i>aph(3')-Ia</i>	O-Fosfotransferasa	Aminoglucósidos (kanamicina)
<i>aadA1</i>	Nucleotidil transferasa	Aminoglucósidos (estreptomicina)
<i>aac(6')-Ib'</i>	Acetilasa	Aminoglucósidos (gentamicina)
<i>sul1</i>	Dihidro pterato sintetasa	Sulfonamidas
<i>dfrA8</i>	Dihidro folato reductasa	Trimetoprima
<i>gyrA_S83I</i>	DNA girasa subunidad A (mutante)	Quinolonas
<i>qnrB10</i>	Proteína de pentapeptidos repetidos	Quinolonas
<i>oqxA</i>	Bomba de eflujo	Quinolonas/fenicoles
<i>oqxB</i>	Bomba de eflujo	Quinolonas/fenicoles

La Cepa **OPS 289** presentaba resistencia a amino y ureido penicilinas (con y sin inhibidores de beta-lactamasas), monobactames, y cefalosporinas. Los carbapenemes por su parte se encontraban dentro de la categoría de sospecha de carbapenemasa (Ver abajo Análisis de Concordancia, Tabla 15).

Se observaba inhibición por ácido borónico (APB), tests colorimétricos para el screening de carbapenemasas positivo (Blue Carba Test, Carba-NP-direct) y mCIM positivo (pero negativo para eCIM), características fenotípicas que sugieren una carbapenemasa de Clase A. En el ensayo de las nuevas combinaciones de droga, se obtuvieron resultados de resistente tanto para CZA como para ceftolozano/tazobactam (C/T). Asimismo el ensayo de pre-difusión rápida AZT/CZA dió como resultado: “fenotipo no salvaje” (10mm). (Ver protocolo en: <http://antimicrobianos.com.ar/2021/02/protocolo-predifusion-rapida-aztreonam-avibactam/>).

Tabla 14. Características fenotípicas de los principales mecanismos de resistencia adquirida a CZA en Enterobacteriales de Argentina, distintos de MBL.

	PER	KPC+PER	mutKPC	OXA-163
Inhibición con APB	Negativa	Positiva	Positiva (Si la cepa es IMP-S evaluar sinergia CAZ-APB)	Negativa
CZA	R >> S	R >> S	R	S >> R (aprox. 10% de R)
Aztreonam avibactam (ATM-AVI) ¹	Fenotipo No-salvaje	Fenotipo No-salvaje	Fenotipo Salvaje (excepto, al menos, KPC-41, KPC-44 y KPC-57 que pueden presentar R) ²	Las cepas CZA-R suelen presentar R cruzada a ATM-AVI
Ceftolozano tazobactam (C/T)	S >> R ³	R ³	R	R
Sinergia IMP-CAZ	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo (50% de los casos)
Met. colorimétrico (Blue Carba o similares)	Negativo	Positivo	Negativo >> Positivo	Negativo >> Positivo
Inmuno-cromatografía	Negativo	Positivo KPC	Negativo >> Positivo KPC ⁴	Positivo OXA

			(leer resultados a los 15min y 60min)	
Carbapenem	S	R	S, R ⁵	S, I, R

1. ATM-AVI: fenotipo salvaje CIM ≤ 1.0 mg/L, fenotipo no-salvaje CIM ≥ 2.0 mg/L. Protocolo predifusión rápida: <http://antimicrobianos.com.ar/2021/02/protocolo-predifusion-rapida-aztreonam-avibactam/>. Para la evaluación de la combinación AZT-AVI se utiliza un punto de corte poblacional (salvaje $\leq 1\mu\text{g/ml}$) que sirve para evaluar presencia o ausencia de mecanismo de resistencia, no es un punto de corte clínico. Por esta razón se puede obtener sensibilidad a CZA (sensible $\leq 8\mu\text{g/ml}$) pero fenotipo no-salvaje para la combinación AZT-AVI.
2. No todas las variantes de KPC que confieren resistencia a CZA han publicado estudios cinéticos sobre la eficacia inhibitoria de avibactam y/o resultados frente a ATM-AVI.
3. La resistencia a ceftolozano/tazobactam esta exclusivamente mediada por KPC. La BLEE tipo PER usualmente es sensible a esta combinación. La hiper-producción de AmpC puede enmascarar la sensibilidad a C/T típica de BLEE tipo PER, en particular en E. cloacae, principal huésped bacteriano para este tipo de BLEE.
4. Frente a una cepa con resistencia a CZA, se sugiere observar nuevamente el blanco de KPC de las inmuno-cromatografías (IC) luego de transcurridos 60 minutos de su realización debido a cambios en el epitope de reconocimiento de los anticuerpos. Registrar como positivo las bandas fantasmas de KPC (positivo débil). **Recordamos además que algunos trabajos, al igual que el LRR, recomiendan extender el tiempo de extracción en el buffer a 15 minutos para mejorar la detección de NDM. Algunas cepas productoras de NDM pueden dar negativa la IC si no se extiende el tiempo de extracción a 15 min.**
5. En la literatura es habitual observar el fenómeno “see-saw” (sube y baja) referido al incremento de la actividad hidrolítica de las mutKPC frente a CAZ a costa de perder eficiencia catalítica sobre carbapenem, recuperando sensibilidad a imipenem/meropenem/ertapenem.

Un rasgo característico de las **BLEE tipo PER**, pero no de OXA o mutKPC, es la capacidad de poder presentar el fenómeno de **hetero-resistencia a CZA**, entendiéndose por ello

que no toda la población bacteriana expresa simultáneamente el rasgo de resistente, es decir, que hay respuesta variable a el/los antibiótico/s en la población. Esta hetero-resistencia a CZA se presenta más frecuentemente en *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella oxytoca*. En la evaluación de sensibilidad a CZA por un método de difusión, es de vital importancia inspeccionar la presencia de colonias dentro de las zonas de inhibición y/o elipses de tira de gradiente y considerarlas a la hora de categorizar la cepa. Estas macro o micro colonias nos orientan a considerar a la coproducción de PER como causal de esta resistencia. **Recomendamos siempre inspeccionar las zonas de inhibición del disco de CZA, de ser necesario, utilizando luz transmitida.**

Se desconoce por el momento las bases moleculares y/o epi-genéticas del fenómeno de hetero-resistencia asociado a PER vs CZA. Esta hetero-resistencia se visualiza en 3 de cada 4 cepas KPC+PER con el disco o tira de CZA. **Sin embargo, la hetero-resistencia en cepas KPC+PER se visualiza en el 100% de los aislamientos cuando se evalúa ATM-AVI por el método de predifusión rápida. Por lo que ATM-AVI se convierte en el mejor indicador de la hetero-resistencia mediada por PER en cepas KPC.**

En infecciones severas y/o de alto inóculo por *E. cloacae* y *K. oxytoca* productores de KPC y con aparente sensibilidad a CZA, es de vital importancia detectar la hetero-resistencia a CZA o a su marcador ATM-AVI para evitar el uso de estas combinaciones para tratamiento. La observación de hetero-resistencia sería un fuerte indicador de la coproducción de PER.

Los discos de CZA se comercializan con dos cargas distintas: carga CLSI 30/20 µg (Liofilchem), y carga EUCAST 10/4µg (Britania y Liofilchem). **Desde el LRR recomendamos el uso de los discos de CZA con carga EUCAST 10/4µg.** Esta preferencia se basó en estudios de correlación realizados en el LRR (*Pasteran F. y col. P2779-29th ECCMID, 2019*) donde se observó que los discos de carga CLSI 30/20µg presentan para Enterobacterales una alta proporción (hasta 30%) de errores mayores (falsa resistencia) en comparación con los discos con carga EUCAST 10/4µg.

Para aquellos laboratorios que utilizan sistemas automatizados o tiras de gradiente para determinar la CIM a CZA, tanto CLSI como EUCAST utilizan las mismas categorías de interpretación.

Análisis de concordancia

En la Tabla 15 se muestran los rangos de referencia establecidos para el método de difusión y el porcentaje de concordancia con el rango de referencia para los antibióticos evaluados.

Tabla 15. Rangos de referencia establecidos por el LRR.

ANTIBIOTICO	RANGO de REFERENCIA
CEFOTAXIMA	6 – 15 mm
IMIPENEM	18 – 25 mm
MEROPENEM	18 – 24 mm
CEFTAZIDIMA/AVIBACTAM	7 – 12 mm
AMICACINA	17 – 23 mm
COLISTIN	*

(*) El método de difusión no está recomendado para evaluar la sensibilidad a colistin, por ello, para este antibiótico solo se evaluó la categoría de interpretación. NA: no aplica.

Para imipenem y meropenem no se evaluó la concordancia en la interpretación. En el caso de meropenem, la recomendación es informarlo como “Apto” o “No Apto para tratamiento combinado”. En el caso de la Cepa **OPS 289** meropenem se encontraba dentro de la categoría “Apto para tratamiento combinado” ya que presentaba zonas de inhibición en un rango de 18 a 25mm y valores de CIM menores a 32 µg/ml por todas las metodologías evaluadas (tiras de gradiente, Sensititre[®], Vitek2C[®] y Phoenix[®]).

Cefotaxima y ampicacina presentaron 100% de concordancia en la interpretación. En el caso de ceftazidima/avivactam, 5/7 LNRs probaron discos con la carga CLSI 30/20µg, por lo que la concordancia en los halos de inhibición no será evaluada en la presente encuesta.

Dos laboratorios reportaron colistín como intermedio aunque obtuvieron valores de CIM de 0.5 mg/L, por debajo del punto de corte, por lo que seguramente usaron las categorías de interpretación del CLSI donde se definen sólo categorías I y R para colistín. En el caso de la cepa **OPS 289**, la misma presentaba una CIM de colistin ≤ 1 µg/ml por

microdilución (Sensititre®), así como Col-Drop y Agar Spot de COL negativos. Recordamos a los participantes, que las tiras de gradiente y los métodos automatizados (Vitek2C®, Phoenix®) no están recomendados para evaluar la sensibilidad a esta droga. En el link podrán encontrar los métodos recomendados por el LRR para evaluar la sensibilidad a colistín: <http://antimicrobianos.com.ar/2017/09/protocolos-colistin/>.

Respecto del mecanismo de resistencia inferido, 15/16 (93,8%) laboratorios identificaron correctamente a la cepa como productor de carbapenemasa de Clase A (Tabla 16). Esta cepa es productora de carbapenemasa inhibible por APB (KPC) y es resistente a CZA, sin embargo, esta resistencia no se asocia a la presencia de KPC mutante. En la presente cepa, no se observaban algunas de las características diferenciales de las mutantes de KPC como ser: sensibilidad a los carbapenemes, ensayos negativos de los métodos colorimétricos y/o inmuno-cromatográficos y fenotipo salvaje de la combinación aztreonam/avibactam.

Tabla 16. Cepa OPS 289. Mecanismo de resistencia inferido

N° Mecanismo	Mecanismo	N° Labs	%	Laboratorios
12 + 37	Carbapenemasa tipo KPC + Resistencia a CZA	1	6,3	3
12 + 5	Carbapenemasa tipo KPC +BLEE	9	56,3	1, 6, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 17
8	Carbapenemasa inhibible por APB	2	12,5	5, 12
5 + 12 + 37	BLEE + Carbapenemasa tipo KPC + Resistencia a CZA	3	18,8	4, 11, 15
8 + 10	Carbapenemasa inhibible por APB + Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL) + BLEE	1	6,3	19

Un laboratorio (Lab. 19) reportó Carbapenemasa inhibible por APB + Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL) + BLEE, respuesta que no se consideró correcta.

La coproducción de BLEE fue reportada por 12/16 laboratorios. El diagnóstico fenotípico de BLEEs tradicionales, como cefotaximasas tipo CTXM o ceftazidimasas tipo PER, en una cepa productora de carbapenemasa tipo KPC es en extremo dificultoso, debido a la superposición fenotípica sobre cefalosporinas de espectro extendido e inhibición (total en BLEE y parcial en KPC) por ácido clavulánico. En el caso particular de PER, su sospecha fenotípica se vuelve evidente en el antibiograma al observarse resistencia a CZA.

Es importante aclarar que la presencia de PER no implica necesariamente resistencia a CZA, pero de haber resistencia a CZA, la producción de PER es uno de los posibles mecanismos involucrados.

La resistencia a CZA requiere del diagnóstico diferencial de otros mecanismos distintos de BLEE tipo PER que podrían afectar a este antibiótico de última línea. La resistencia a CZA en un aislamiento sospechado de producir KPC, constituye una señal de alarma para la búsqueda de una segunda carbapenemasa de naturaleza MBL.

OPS 290 - *Klebsiella pneumoniae*

La Cepa **OPS 290** correspondía a una *K. pneumoniae* aislada de hemocultivo de un paciente con bacteriemia asociada a catéter.

Con respecto a la sensibilidad, **esta cepa presentaba un perfil de resistencia inusual mediado por la coproducción de dos carbapenemasas (doble productor): una de clase A, KPC-2, y otra de clase B o metalo-enzima NDM-1.**

Además, el aislado coproducía BLEE del tipo **CTX-M-grupo 2** y AmpC plasmídico del tipo **CMY-6**. La cepa perteneció al complejo clonal hiper-epidémico ST11. En la Tabla 17 se muestran los genes asociados a resistencia a antimicrobianos obtenidos por secuenciación completa de genoma.

Tabla 17: Resultados de secuenciación completa de genoma de la Cepa OPS 290: genes relacionados a mecanismos de resistencia a los antimicrobianos:

Gen	Resistencia asociada
<i>blaNDM-1</i>	Beta-lactámicos = carbapenemes
<i>blaKPC-2</i>	Beta-lactámicos = carbapenemes
<i>blaCMY-6</i>	Beta-lactámicos
<i>blaCTX-M-2</i>	Beta-lactámicos=cefalosporinas
<i>gyrA_D87N</i>	Quinolonas
<i>gyrA_S83I</i>	Quinolonas
<i>sul1</i>	Sulfonamidas
<i>sul2</i>	Sulfonamidas

<i>rmtC</i>	Aminoglucósidos
<i>aac(6')-Ib11</i>	Amikacina/gentamicina/Kanamicina/Tobramicina
<i>blaSHV-11</i>	Beta-lactámicos
<i>oqxA</i>	Quinolonas
<i>oqxB</i>	Quinolonas
<i>aadA1</i>	estreptomicina
<i>catA1</i>	cloranfenicol
<i>aac(3)-IVa</i>	gentamicina

Los dobles productores de carbapenemasas constituyen un doble desafío, para el control de infecciones y para la selección del tratamiento antimicrobiano óptimo. Desde el inicio de la pandemia de COVID-19, varios países de la región de Las Américas, reportaron la emergencia de Enterobacterales que expresan dos o más carbapenemasas (https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/55319/EpiUpdate22oct2021_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y). (<http://antimicrobianos.com.ar/2022/11/increased-detection-of-carbapenemase-producing-enterobacterales-bacteria-in-latin-america-and-the-caribbean-during-the-covid-19-pandemic/>).

En un estudio multicéntrico, prospectivo, de Relevamiento de Enterobacterales Productores de Carbapenemasas en Argentina (RECAPT-AR) realizado en noviembre de 2021, del que participaron 183 hospitales, permitió confirmar la circulación de dobles productores de carbapenemasas en 8 de las 24 jurisdicciones sanitarias del país. La combinación de KPC+NDM alcanzó una prevalencia del 3.8% respecto del total de productores de carbapenemasas.

(<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2022/09/Prevalencia-Nacional-de-Enterobacterales-Productoras-de-Carbapenemasas-CPE-en-la-era-COVID-19-en-Argentina.pdf>).

Las metodologías fenotípicas fueron capaces de capturar la Cepa OPS 290 como “sospechosa de carbapenemasa”, con las respectivas señales de alarma propuestas en el algoritmo de detección de carbapenemasas para cada una de las técnicas (<http://antimicrobianos.com.ar/2021/11/algoritmos-de-deteccion-de-carbapenemasas-2021/>) (Tabla 18).

Tabla 18. Cepa OPS 290. Resultados fenotípicos para la sospecha de carbapenemasas según algoritmo vigente

Señal de sospecha según algoritmo del LNR	Difusión (mm)	Phoenix	Vitek 2C
	Imipenem <=22 mm <i>o bien</i> Ceftazidima avibactam <=12 mm	Imipenem >= 2.0 ug/ml	Imipenem >= 2.0 ug/ml
Cepa OPS 290	SI IMP 12 mm, CZA 6 mm	SI >16 ug/ml	SI >32 ug/ml

La Cepa **OPS 290** presentó resultados positivos para los métodos colorimétricos de determinación de la actividad de carbapenemasa, como Blue Carba test y Carba NP. Además, mostró un resultado positivo de actividad enzimática mediante el Triton Hodge Test.

Los mayores desafíos fenotípicos de los dobles productores resultan a la hora de clasificar el tipo de carbapenemasa. Los resultados de las pruebas de inhibición (sinergia) con monodiscos de ácido borónico (APB) y EDTA pueden presentar resultados inusuales, subestimando la presencia de alguna de las carbapenemasas o incluso presentar resultados negativos para ambos inhibidores. Por ese motivo, el LRR ha emitido recomendaciones para la búsqueda y confirmación de los dobles productores de carbapenemasas:

<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/05/Alerta-epidemiológica-dobles-productores-de-carbapenemasa-COVID-19-v4.pdf>.

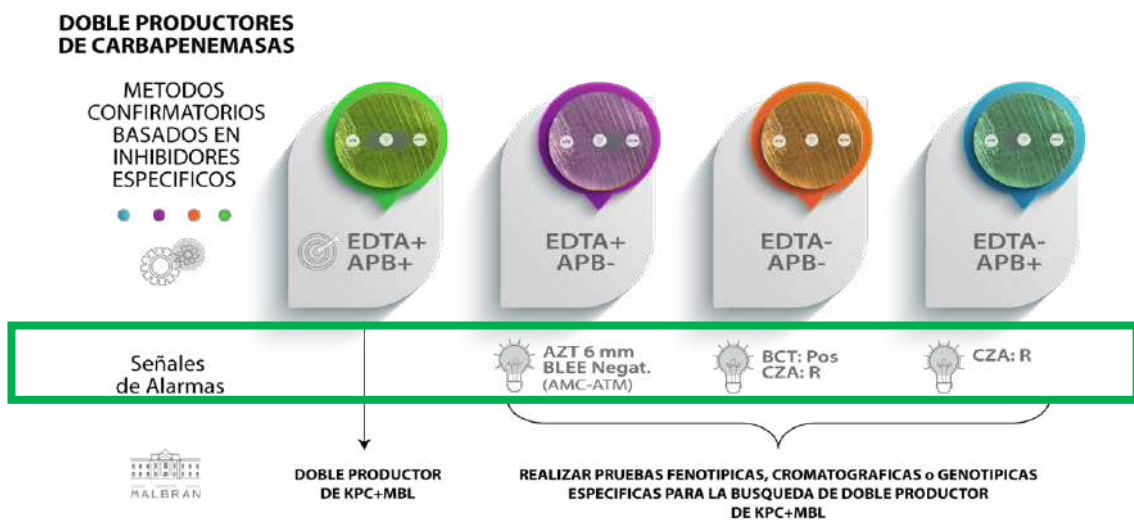
La Cepa OPS 290 presentaba resistencia a CZA, una señal de alarma para la búsqueda de una carbapenemasa de naturaleza MBL, ya que es el mecanismo de resistencia frente a CZA más prevalente en la región. En primer lugar, se sugiere dar seguimiento a la resistencia a CZA con pruebas adicionales utilizando los discos de APB y EDTA. En el LNR, la cepa presentaba sinergia entre EDTA y los carbapenemes, sugerente de la presencia de una MBL. Pero NO se observó inhibición entre APB y los carbapenemes, permaneciendo oculta la coproducción de KPC en estas condiciones de ensayo (Figura 2).

Figura 2. Cepa OPS 290. Fenotipo de inhibición con APB y EDTA frente a carbapenemes.



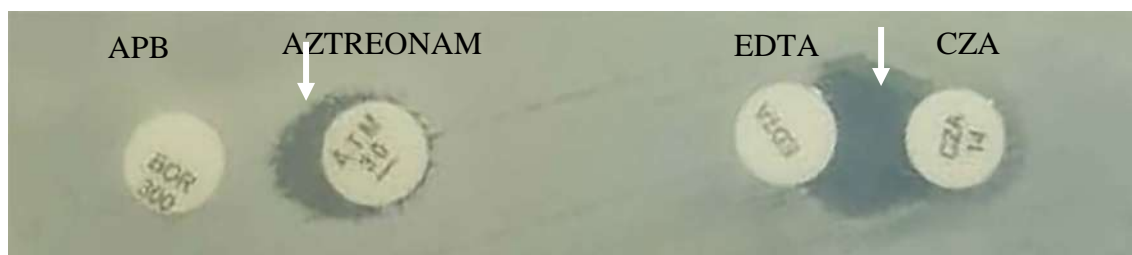
Contrariamente, otro método fenotípico para la clasificación de carbapenemasas como el método de inactivación de carbapenemes modificado (mCIM) junto con el ensayo de inactivación con EDTA (eCIM), resultó positivo para serino-enzimas (mCIM positivo con eCIM negativo). Esta discordancia de mCIM/eCIM con respecto a los resultados obtenidos con los discos de APB y EDTA, refleja las limitaciones de las pruebas tradicionales de inhibición para poner de manifiesto las coproducciones de KPC+MBL. Por ello, **resulta de vital importancia prestar atención a otros indicadores fenotípicos del antibiograma que sugieren la posibilidad de tener un aislado con más de una carbapenemasa (Figura 3).**

Figura 3. Señales de alarma para la búsqueda de doble productores de carbapenemasas recomendadas por el LNR



Entre las señales de alarma para la búsqueda de una segunda carbapenemasa observados en la Cepa OPS 290, se destaca que el aislado presentaba alto nivel de resistencia a aztreonam (6-10 mm de zona de inhibición, CIM por dilución en agar de 128 ug/ml). Además de una posible segunda carbapenemasa, existen otros mecanismos de resistencia que pueden generar alto nivel de resistencia a aztreonam en una cepa MBL+ como es la presencia de BLEEs. En estos casos, para conocer la causa detrás del alto nivel de resistencia al aztreonam, se sugiere evaluar sinergia entre este monobactam y los respectivos discos de amoxicilina clavulánico y APB, para la búsqueda fenotípica de BLEE y KPC, respectivamente. La Cepa OPS 290 mostró una clara sinergia entre aztreonam y APB confirmando fenotípicamente la coproducción de KPC (Figura 4).

Figura 4. Cepa OPS 290. Colocación estratégica de discos de APB y EDTA para la confirmación fenotípica de dobles productores de carbapenemasas tipo KPC+MBL



Recordamos a los participantes que los discos comerciales comúnmente denominados EDTA (*Laboratorios Britania S.A.*), poseen dos quelantes de zinc, 372 ug de EDTA y 900µg de mercapto acético de sodio, dotándolos de un poder de quelación único que permite poner en evidencia MBLs en condiciones adversas de detección. Es por ello que se observa una tendencia a detectar más la presencia de MBL que KPC en las combinaciones de estas dos enzimas. Pese a ello, también se recomienda buscar o confirmar la presencia de MBL en coproducción con otras carbapenemasas mediante la prueba de sinergia con discos de EDTA pero aproximado al disco de CZA en lugar de los carbapenemes (Figura 4).

Análisis de concordancia

En la Tabla 19 se muestran los rangos de referencia establecidos para el método de difusión y el porcentaje de concordancia con el rango de referencia para los antibióticos evaluados. Se observa una concordancia global de 88% con los rangos de referencia.

Tabla 19. Cepa OPS 290. Rangos de referencia establecidos por el LNR por el método de difusión.

ANTIBIOTICO	RANGO de REFERENCIA
AZTREONAM	6 – 11 mm
MEROPENEM	9 – 15 mm
CEFTAZIDIMA/AVIBACTAM 14ug	6 – 10 mm
AMICACINA	6 – 9 mm
MINOCICLINA	14 – 21 mm
COLISTIN	*

(*) El método de difusión no está recomendado para evaluar la sensibilidad a colistín, por ello, para este antibiótico solo se evaluó la categoría de interpretación.

La cepa **OPS 290** presentaba una CIM de colistín ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ por microdilución (Sensititre[®]), así como Col-Drop y Agar Spot de COL negativos.

Respecto al “Mecanismo de resistencia inferido”, 75% (12/16) de los laboratorios participantes reportaron correctamente la cepa como **coproductora de CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR APB (KPC) + CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR EDTA (MBL)**. Felicitamos a los participantes del Programa que demostraron una alta capacidad diagnóstica de este mecanismo emergente.

Dos LNRs (12.5%) detectaron solo la presencia de KPC, respuesta que en esta oportunidad también consideramos correcta por tratarse de un mecanismo emergente (Tabla 20). Recordamos una vez más que resulta imprescindible identificar las señales de alarma de coproducción de carbapenemasas, como la alta resistencia a aztreonam en cepas MBL positivas y la resistencia a CZA en cepas KPC positivas.

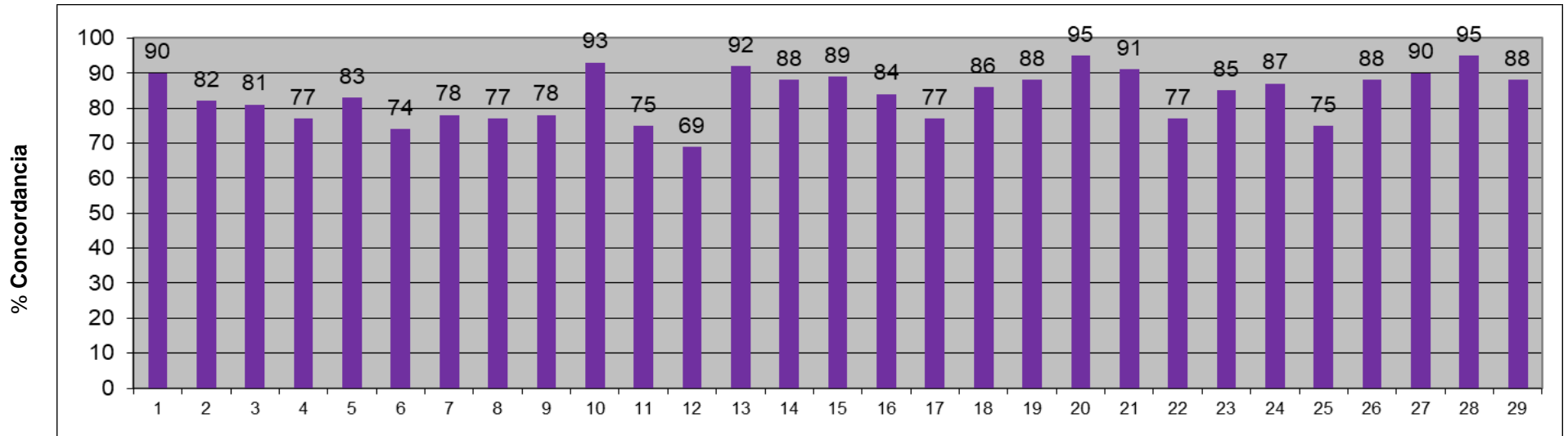
Tabla 20. Cepa OPS 290. Mecanismo de resistencia inferido

N° Mecanismo	Mecanismo	N° Labs	%	Laboratorios
3, 5, 12, 14	AMP C plasmidico + BLEE + Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM	2	12,5	9, 17
12, 14	Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM	3	18,8	6, 13, 14
8, 9	CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR APB (KPC, otras) + CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR EDTA (MBL)	2	12,5	5, 19
5, 12, 14	BLEE + Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM	2	12,5	7, 8
5, 12, 14, 37	BLEE + KPC + NDM + R CZA	1	6,3	3
12, 14, 37	Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM + R CZA	2	12,5	11, 15
12	Cabapenemasa tipo KPC	2	12,5	1, 12
4	AmpC + impermeabilidad	1	6,3	16
9, 12, 14, 32, 37, 38	CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR EDTA (MBL) + Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM + RESISTENCIA A POLIMIXINAS +	1	6,3	4

Evolución de Indicadores de Calidad

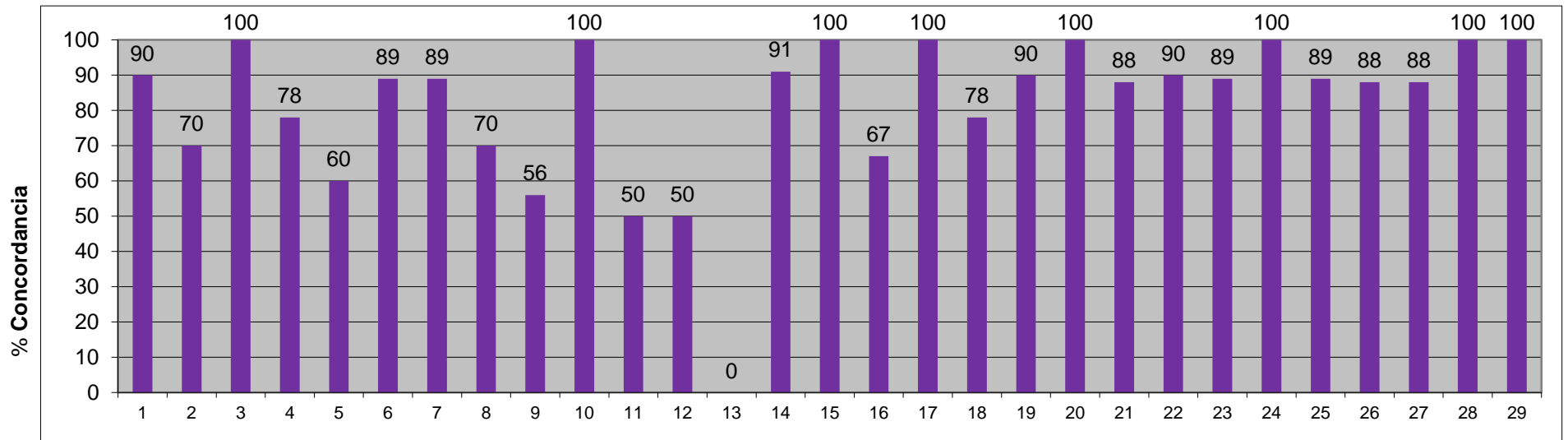
Identificación Bacteriana

General



Encuesta

Laboratorio 3

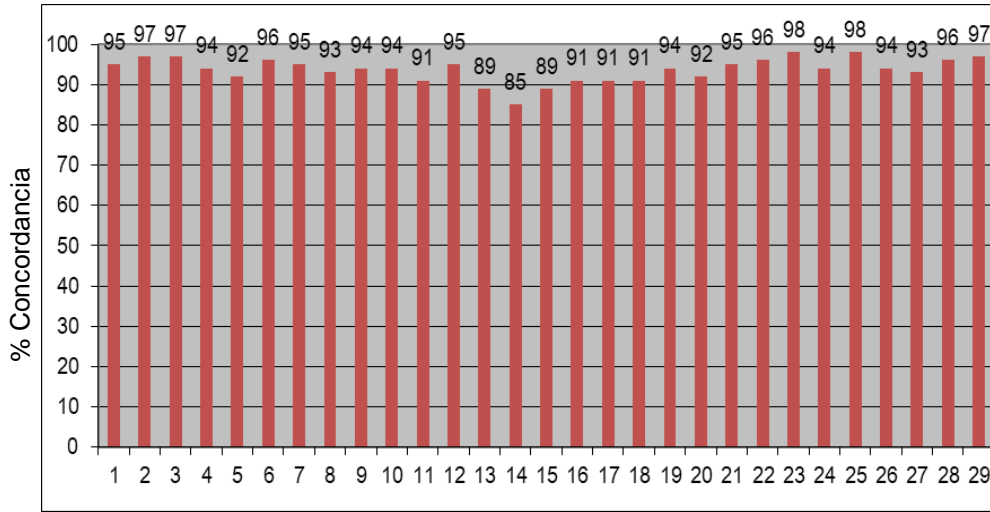


Encuesta

Evolución de Indicadores de Calidad

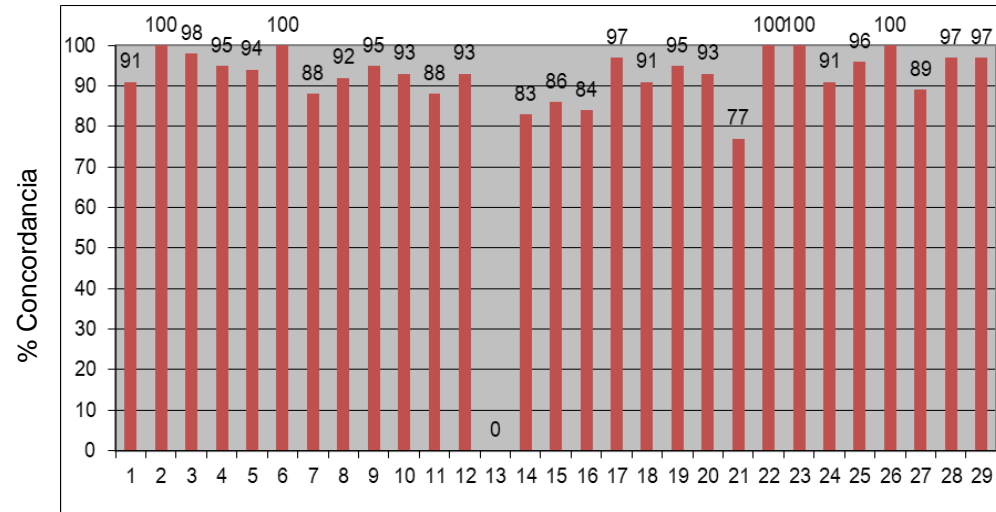
Interpretación de Pruebas de Sensibilidad

General



Nro de encuesta

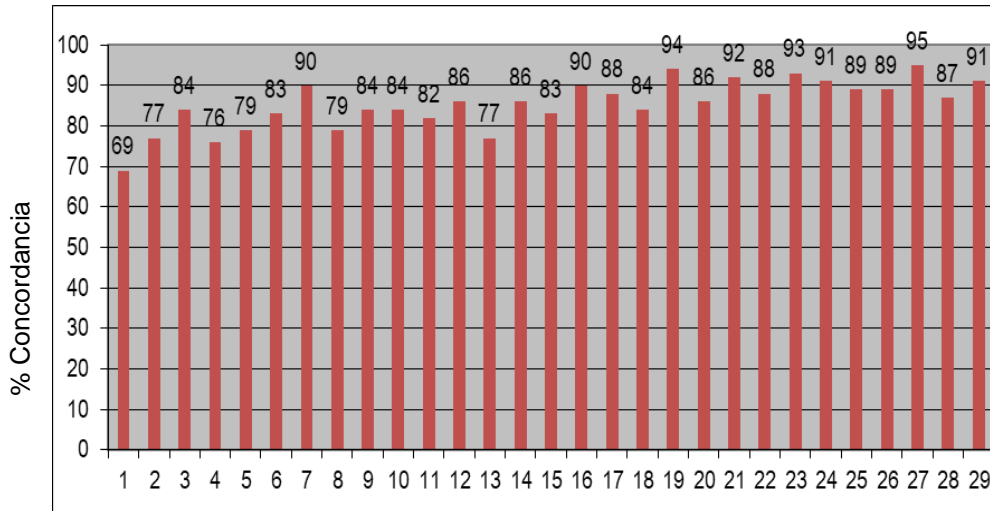
Laboratorio 3



Nro de encuesta

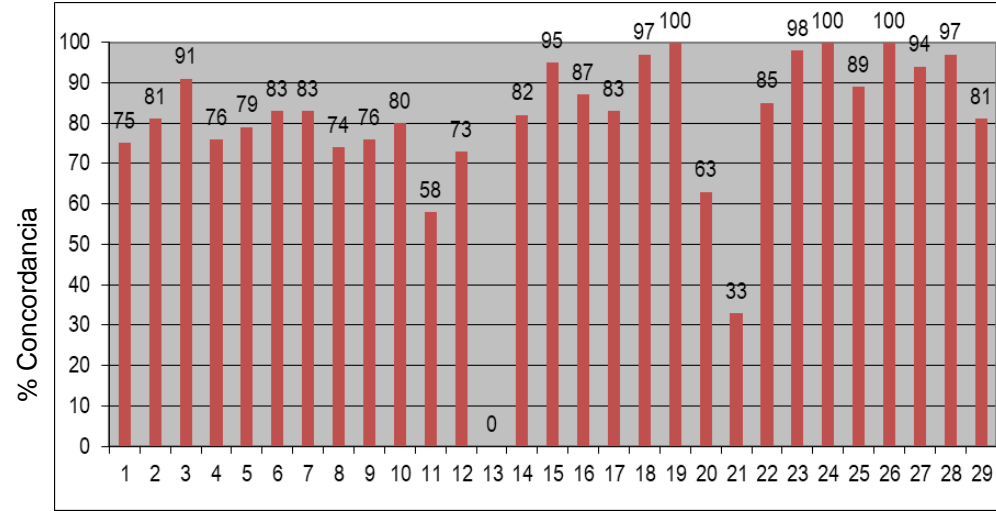
Concordancia con los Rangos de Zonas de Inhibición aceptables

General



Nro de encuesta

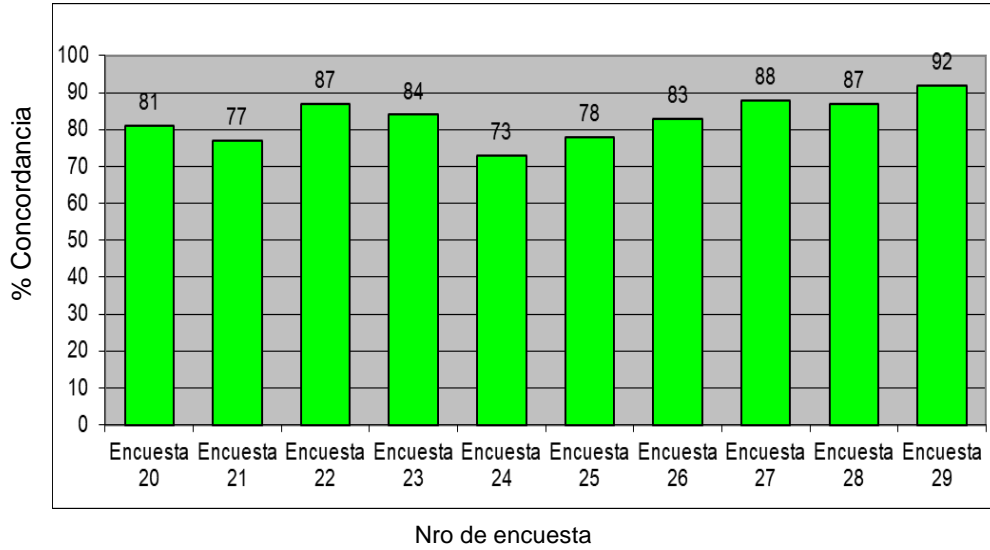
Laboratorio 3



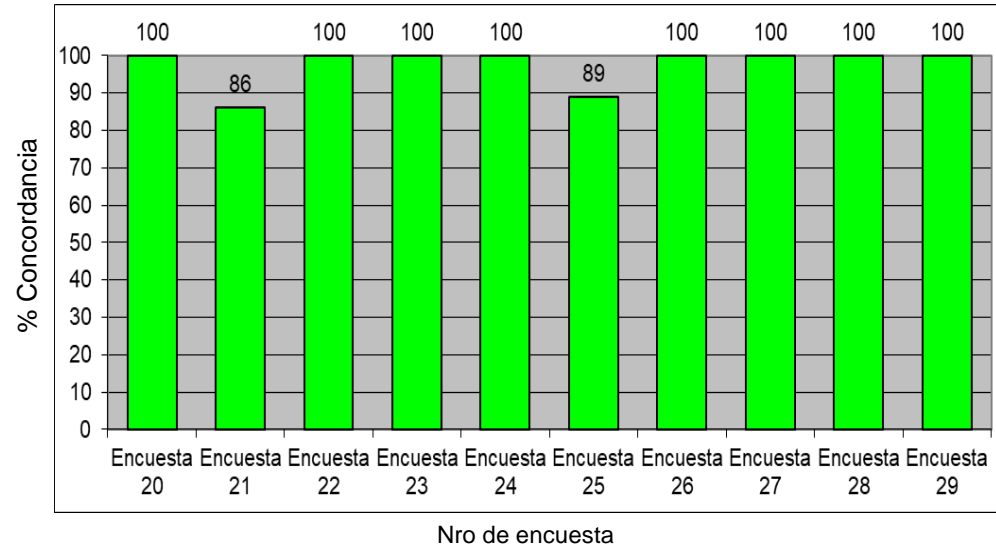
Nro de encuesta

Evolución de Indicadores de Calidad Mecanismo de Resistencia Inferido

General

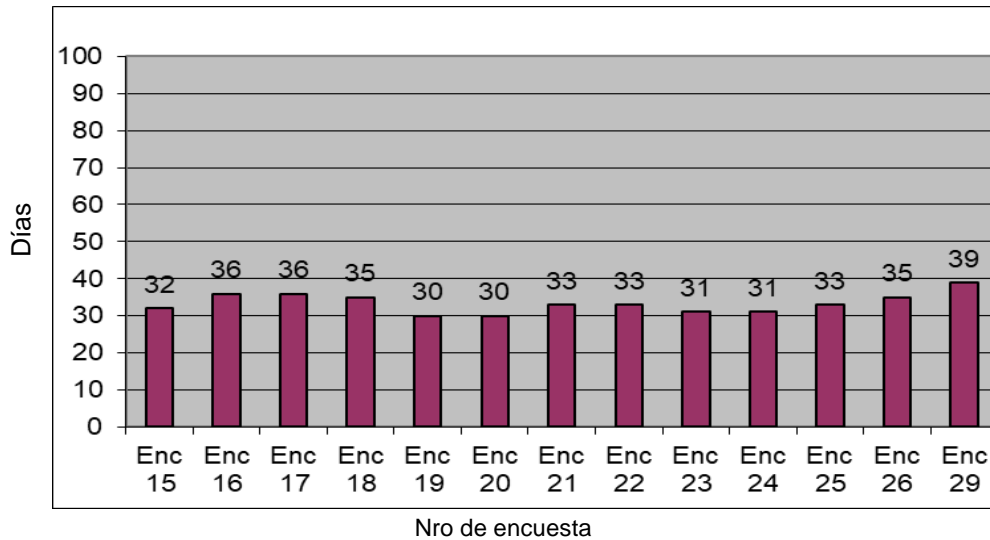


Laboratorio 3

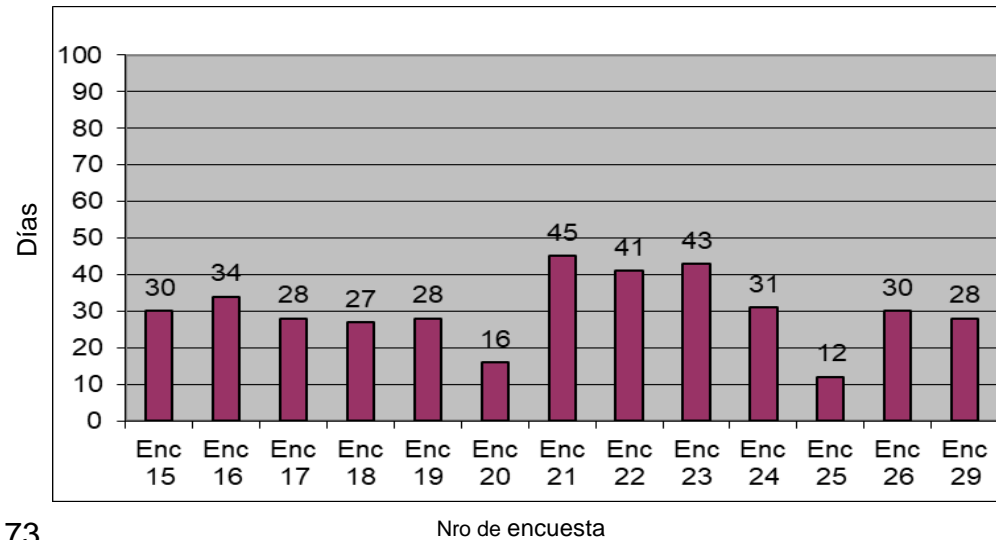


Tiempo de demora en la respuesta

General



Laboratorio 3



COMENTARIOS GENERALES DE LA ENCUESTA N° 29

Los objetivos de esta **Encuesta 29** fueron desafiar a los laboratorios con el envío de cepas con dificultad en la identificación, con fenotipos de difícil detección o mecanismos de resistencia combinados:

- 1) Identificación de *Vibrio vulnificus* (OPS 281), *Streptococcus suis* (OPS 283), *Comamonas kerstersii* (OPS 284) y *Ralstonia incidiosa* (OPS 287).
- 2) Evaluación de distintos mecanismos de resistencia a ceftazidima/avibactam: *Klebsiella aerogenes* (OPS 282), *Klebsiella oxytoca* (OPS 289) y *Klebsiella pneumoniae* (OPS 290).
- 3) Detección de una mutante de KPC con fenotipo inusual (OPS 282).
- 4) Detección de resistencia a meticilina en *S. aureus* con fenotipo LA-MRSA (OPS 285).
- 5) Detección de resistencia a carbapenemes por mecanismos combinados en *Pseudomonas putida* con KPC + VIM (OPS 286).
- 6) Detección de carbapenemasa del tipo metalo- β -lactamasa NDM-1 en *A. baumannii* (OPS 288).
- 7) Detección de mecanismos de resistencia combinados en Enterobacteriales: *Klebsiella oxytoca* (OPS 289) con KPC + BLEE y *Klebsiella pneumoniae* (OPS 290) doble productor de carbapenemasas (KPC + NDM + CTXM + CMY).

En la **Tabla 1 (Pag. 18)** se puede ver la correlación en la Identificación Bacteriana entre los Laboratorios Participantes (LNR) y el Laboratorio Coordinador (LRR).

Como veníamos comentando en las Encuestas anteriores, la idea de este Programa de control de calidad era una vez alcanzado el objetivo de tipificar correctamente los gérmenes comunes, comenzar a profundizar de a poco en gérmenes un poco mas complejos o quizás de menor prevalencia, pero no por eso de menor implicancia clínica.

- 1) Identificación de *Vibrio vulnificus* (OPS 281), *Streptococcus suis* (OPS 283), *Comamonas kerstersii* (OPS 284) y *Ralstonia incidiosa* (OPS 287).

En esta Encuesta se desafió a los laboratorios con estas cuatro especies bacterianas no enviadas previamente. ***Vibrio vulnificus* (OPS 281)** fue identificado a nivel de género y especie por 10/11 laboratorios (90,9%), mientras que 1 laboratorio informó género incorrecto. Del mismo modo, en el caso de ***S. suis* (OPS 283)**, 13/14 laboratorios (92,9%) identificaron correctamente esta cepa a nivel de género y especie.

***Ralstonia incidirosa* (OPS 287)** fue identificada correctamente por 12/14 laboratorios (85,7%) y ***C. kerstersii* (OPS 284)** fue la que presentó mayor dificultad, ya que solo fue identificada a nivel de género y especie por 8/16 laboratorios (50%).

***P. putida* (OPS 286)** y ***A. baumannii* (OPS 288)** fueron correctamente identificados a nivel de género y especie por 15/16 (93,8%) y 15/16 (93,8%) de los laboratorios, respectivamente.

***K. aerogenes* (OPS 282)** en esta oportunidad fue identificado correctamente a nivel de género y especie por 12/16 laboratorios (75%).

No se observaron dificultades en la identificación de microorganismos de baja complejidad o que se habían enviado en encuestas previas como: ***S. aureus* (OPS 285)**, ***K. oxytoca* (OPS 289)** y ***K. pneumoniae* (OPS 290)**, los cuales fueron identificados correctamente por la totalidad de los laboratorios participantes.

Hemos agregado a este documento comentarios con los puntos más relevantes donde se detectaron dificultades en esta Encuesta (Pag. 23 - 36).

La **Identificación Bacteriana Aceptable**, fue el marcador utilizado en las primeras Encuestas (Nro. 1 a Nro. 6) y tenía en cuenta las respuestas con “género y especie correctas” + “género correcto, con omisión de especie”. A partir de la Encuesta No. 7, se incorpora el indicador Identificación Bacteriana Ideal, que tiene en cuenta sólo aquellas respuestas con “género y especie correctas”, entonces en las encuestas Nro. 7 a Nro. 13 los Indicadores de Calidad de la Identificación Bacteriana se desglosaron en dos grupos: Aceptable e Ideal. A partir de la Encuesta 14 solo analizamos el **indicador “Tipificación Bacteriana Ideal”** ya que consideramos que lo ideal para un **Laboratorio de Referencia es alcanzar una concordancia $\geq 90\%$ en género y especie correctos.**

En esta Encuesta, la concordancia entre los **Laboratorios Participantes (LNR)** y el **Laboratorio Coordinador (LRR)** fue **88,1%** en la **Tipificación Ideal** (Tabla 2, columna verde, Pag. 18).

Nueve de 16 laboratorios (56,3%) superaron el 90% de concordancia en la Identificación Bacteriana (Lab. 3, 6, 7, 8, 9, 14, 15, 16 y 17) (Tabla 2, fila verde, Página 18), alcanzando siete de ellos el 100% de concordancia.

2) Evaluación de distintos mecanismos de resistencia a ceftazidima/avibactam: *Klebsiella aerogenes* (OPS 282), *Klebsiella oxytoca* (OPS 289) y *Klebsiella pneumoniae* (OPS 290).

La resistencia a ceftazidima/avibactam fue detectada por 12/13 laboratorios en *K. aerogenes* OPS 282, 8/13 en *K. oxytoca* OPS 289 y 13/13 en *K. pneumoniae* OPS 290. Los resultados de los rangos obtenidos por los LNRs no fueron evaluados en esta oportunidad debido a que solo dos laboratorios de los que utilizan método de difusión cuentan con los discos con la carga 10/4 µg (EUCAST) recomendada desde el LRR, basado en los estudios de correlación realizados.

Como sugerimos en la encuesta anterior, en la medida de las posibilidades de los LNRs y en el caso que CZA esté disponible para su uso en los países, sugerimos la incorporación de las pruebas de sensibilidad a estas drogas, ya que son opciones de tratamiento para gérmenes MDR/XDR, como es el caso de CZA para Enterobacterales productores de KPC y OXA-48 like.

Es importante destacar que, aunque se trata de drogas de última generación, ya se han reportado aislados con resistencia, por lo que es fundamental su evaluación *in vitro* en cepas no productoras de MBL.

3) Detección de una mutante de KPC con fenotipo inusual (OPS 282).

Esta cepa presentaba un perfil de resistencia inusual a ceftazidima/avibactam (CZA), acompañado de aparente sensibilidad a carbapenemes, mediado por la producción de KPC-57, una mutante o variante alélica que difiere de KPC-2 solo por una sustitución del ácido aspártico por una valina en la posición 179 (D179V).

El mecanismo totalmente correcto sería: “CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR APB (KPC, otras) + R a ceftazidima/avibactam”, pero debido a la complejidad para el diagnóstico

fenotípico diferencial que presentaba la cepa, en esta oportunidad, el LRR consideró como válidas todas las respuestas a excepción de la derrepresión de AMPc.

Tabla. Cepa OPS 282. Mecanismo de resistencia inferido.

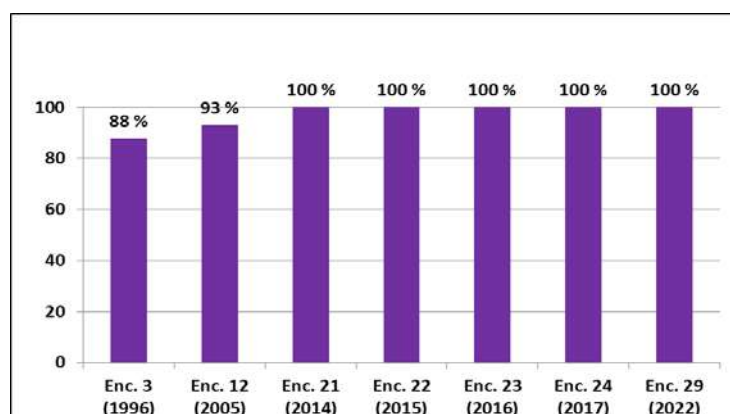
Nº Mecanismo	Mecanismo	Nº Labs	%	Laboratorios
5 + 12 + 37 + 38	BLEE + Carbapenemasa tipo KPC + R CZA + R C/T	1	6,3	8
5 + 12 + 37	BLEE + Carbapenemasa tipo KPC + R CZA	1	6,3	17
12	Carbapenemasa tipo KPC	1	6,3	6
5 + 12	BLEE + Carbapenemasa tipo KPC	1	6,3	9
5	BLEE	1	6,3	3
5 + 37 + 38	BLEE + R CZA + R C/T	2	12,5	13, 15
6	BLEE + IMPERMEABILIDAD	2	12,5	5, 12
4 + 12 + 37	AMPC+ IMPERMEABILIDAD + Carbapenemasa tipo KPC + R CZA	1	6,3	7
9 + 37 + 38	BLEE+ IMPERMEABILIDAD + R CZA + R C/T	1	6,3	4
5 + 6 + 37	BLEE + BLEE+ IMPERMEABILIDAD + R CZA	1	6,3	11
2	Derrepresion de AmpC	2	12,5	14, 16
2 + 11	Derrepresion de AmpC + Resistencia no enzimatica a carbapenemes	1	6,3	1
32	Resistencia a polimixinas	1	6,3	19

4) Detección de resistencia a meticilina en *S. aureus* con fenotipo LA-MRSA (OPS 285).

En esta oportunidad la cepa de *S. aureus* OPS 285 no presentó dificultad en la detección del mecanismo de resistencia a meticilina mediada por el gen *mecA*. Es importante tener presente los fenotipos habituales de MRSA humanos circulantes en los distintos países, para así poder distinguir otros fenotipos inusuales, que por lo general se asocian a aislamientos de origen animal, como por ejemplo la resistencia a tetraciclina (*tetL*), cloranfenicol (mediada por *fexA*), etc.

Como puede observarse en el siguiente gráfico, este mecanismo no presentó dificultad en su detección en las últimas oportunidades en que fue evaluado.

Evolución en la detección de resistencia a meticilina en *S. aureus*



5) Detección de resistencia a carbapenemes por mecanismos combinados en *Pseudomonas putida* con KPC + VIM (OPS 286).

Debido a la dificultad que presenta la detección de estos mecanismos combinados descrita más arriba, en esta oportunidad se consideraron también correctas las respuestas: “Carbapenemasa” y “MBL”. El 87.5% de los LNRs detectaron la presencia de carbapenemasa y el 62.5% (10/16) infirieron correctamente el mecanismo “Carbapenemasa tipo KPC + Carbapenemasa tipo NDM” y “KPC + Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL)”.

Tabla. Cepa OPS 286. Mecanismo de resistencia inferido.

N° Mecanismo	Mecanismo	N° Labs	%	Laboratorios
12 + 9	KPC + Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL)	9	56,3	3, 6, 7, 8, 9, 11, 14, 15, 17
12 + 14	Carbapenemasa tipo KPC + Carbapenemasa tipo NDM	1	6,3	4
7	Carbapenemasa	3	18,8	5, 12, 16
9	MBL (VIM)	1	6,3	13
11	Resistencia no enzimática a carbapenemes	1	6,3	19
99	No aplica	1	6,3	1

6) Detección de carbapenemasa del tipo metalo-β-lactamasa NDM-1 en *A. baumannii* (OPS 288)

Si bien la respuesta totalmente correcta es “Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL)” o “Carbapenemasa tipo NDM”, la cual fue informada correctamente por el

75% (12/16) de los LNRs, dos LNRs (Lab. 13 y 16) informaron “Carbapenemasa”, respuesta que también fue considerada correcta.

Tabla. Cepa OPS 288: Mecanismo de resistencia inferido.

Nº Mecanismo	Mecanismo	Nº Labs	%	Laboratorios
9	Carbapenemasa inhibible por EDTA	4	25,0	1, 5, 12, 19
14	Carbapenemasa tipo NDM	6	37,5	3, 7, 8, 9, 14, 15
9 + 14	Carbapenemasa inhibible por EDTA + Carbapenemasa tipo NDM	2	12,5	4, 17
7	Carbapenemasa	2	12,5	13, 16
10	Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL) + BLEE	1	6,3	6
9+12+14	Carbapenemasa inhibible por EDTA + Carbapenemasa tipo KPC + Carbapenemasa tipo NDM	1	6,3	11

7) Detección de resistencia por mecanismos combinados en Enterobacteriales

- ***Klebsiella oxytoca* OPS 289 con KPC + BLEE**

La cepa OPS 289 presentaba un perfil de resistencia inusual, sugerente de la adquisición de una carbapenemasa de clase A, KPC-2, pero acompañado de resistencia a ceftazidima/avibactam, mediado por la coproducción de una BLEE tipo PER-2.

El diagnóstico fenotípico de BLEEs tradicionales, como cefotaximasas tipo CTXM o ceftazidimasas tipo PER, en una cepa productora de carbapenemasa tipo KPC es en extremo dificultoso, debido a la superposición fenotípica sobre cefalosporinas de espectro extendido e inhibición (total en BLEE y parcial en KPC) por ácido clavulánico. En el caso particular de PER, su sospecha fenotípica se evidencia en el antibiograma al observarse resistencia a CZA.

Como puede observarse en la siguiente tabla la coproducción de BLEE fue reportada por 12/16 laboratorios.

Tabla. Cepa OPS 289. Mecanismo de resistencia inferido

Nº Mecanismo	Mecanismo	Nº Labs	%	Laboratorios
12 + 37	Carbapenemasa tipo KPC + Resistencia a CZA	1	6,3	3
12 + 5	Carbapenemasa tipo KPC +BLEE	9	56,3	1, 6, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 17
8	Carbapenemasa inhibible por APB	2	12,5	5, 12
5 + 12 + 37	BLEE + Carbapenemasa tipo KPC + Resistencia a CZA	3	18,8	4, 11, 15
8 + 10	Carbapenemasa inhibible por APB + Carbapenemasa inhibible por EDTA (MBL) + BLEE	1	6,3	19

- ***Klebsiella pneumoniae* OPS 290 doble productor de carbapenemasa (KPC + NDM + CTXM + CMY)**

La Cepa OPS 290 presentaba un perfil de resistencia inusual mediado por la coproducción de dos carbapenemasas (doble productor): una de clase A, KPC-2, y otra de clase B o metalo-enzima NDM-1. Además, el aislado coproducía BLEE del tipo CTX-M-grupo 2 y AmpC plasmídico del tipo CMY-6.

El 75% (12/16) de los laboratorios participantes reportaron correctamente la cepa como coproductora de CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR APB (KPC) + CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR EDTA (MBL). Como se puede ver en la tabla, dos LNRs (12.5%) detectaron solo la presencia de KPC, respuesta que en esta oportunidad también consideramos correcta por tratarse de un mecanismo emergente.

Tabla. Cepa OPS 290. Mecanismo de resistencia inferido

N° Mecanismo	Mecanismo	Nº Labs	%	Laboratorios
3, 5, 12, 14	AMP C plasmidico + BLEE + Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM	2	12,5	9, 17
12, 14	Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM	3	18,8	6, 13, 14
8, 9	CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR APB (KPC, otras) + CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR EDTA (MBL)	2	12,5	5, 19
5, 12, 14	BLEE + Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM	2	12,5	7, 8
5, 12, 14, 37	BLEE + KPC + NDM + R CZA	1	6,3	3
12, 14, 37	Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM + R CZA	2	12,5	11, 15
12	Cabapenemasa tipo KPC	2	12,5	1, 12
4	AmpC + impermeabilidad	1	6,3	16
9, 12, 14, 32, 37, 38	CARBAPENEMASA INHIBIBLE POR EDTA (MBL) + Cabapenemasa tipo KPC + Carbapenemas tipo NDM + RESISTENCIA A POLIMIXINAS +	1	6,3	4

En la presente encuesta la **concordancia general para la interpretación de las pruebas de sensibilidad fue de 96,5%, es decir EXCELENTE** (intersección fila gris y columna verde, **Tabla 3, Pag. 19**).

En esta Encuesta hubo 9 errores “VMa” o falsa sensibilidad, 6 “Ma” o falsa resistencia y 8 “Mi” (ver columnas grises, **Tabla 4, página 20**). Los errores “VMa” y “Ma” observados en esta encuesta fueron aleatorios y no estuvieron asociados a ninguna droga ni cepa en particular (Tabla 4, página 20).

En la **Tabla 5 (Pag. 21)**, se puede ver la correlación entre los diámetros de inhibición obtenidos por los LNR y los rangos establecidos por el LRR. El grado de concordancia se puede analizar por droga (columnas verdes) o por laboratorio participante (fila gris).

Analizando los **“Rangos de las zonas de inhibición aceptables”**, lo ideal es que un **Laboratorio de Referencia alcance una concordancia en las zonas de inhibición $\geq 80\%$** .

En esta Encuesta la **concordancia con los rangos de inhibición fue de 90.9%**, y se observó una correlación superior al 80% para 16/17 drogas ensayadas.

Analizando la Tabla 5 **por laboratorio** (fila gris, **Página 21**), podemos ver que, en esta Encuesta, la concordancia con el LRR en los rangos de zonas de inhibición fue **\geq al 80%** en 14/16 laboratorios (**Lab. 1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17**) y en 11 de ellos fue **Excelente, con una concordancia $\geq 90\%$** (**Lab. 1, 4, 5, 6, 9, 12, 13, 14, 15, 16 y 17**).

A nivel general, la concordancia con las zonas de inhibición aceptables en la Encuesta 29 fue EXCELENTE, con una concordancia con el laboratorio coordinador del 90,9% (intersección fila gris y columna verde, **Tabla 5. Pag. 21**).

Evolución de Indicadores de Calidad:

En las Páginas 71, 72 y 73 se resume la evolución de 4 de los **5 indicadores de calidad** que evaluamos en este Programa de Evaluación Externa de la Calidad: **(i) Tipificación bacteriana, (ii) Interpretación de las pruebas de sensibilidad y (iii) Concordancia con los rangos de zonas de inhibición aceptables**, que venimos analizando desde el comienzo del Programa y dos nuevos que incorporamos a partir de la Encuesta 20 (2013): **(iv) Mecanismo de resistencia inferido y, (v) Tiempo de demora en la respuesta**. La evolución de este último indicador (v) se ha analizado a partir de la Encuesta 15 (2008) y la del indicador “Mecanismo de resistencia inferido” a partir de la Encuesta 20 (2013).

Como venimos mencionando previamente, lo ideal para un Laboratorio Nacional de Referencia sería que alcance una concordancia con el LRR:

(I) Tipificación bacteriana $\geq 90\%$

(ii) Interpretación de las pruebas de sensibilidad $\geq 90\%$

(iii) Concordancia con los rangos de zonas de inhibición aceptables $\geq 80\%$

(iv) Mecanismo de resistencia inferido $\geq 90\%$

(v) Tiempo de demora en la respuesta ≤ 30 días

En la Página 71, se pueden ver en el gráfico superior los resultados generales de “Identificación Bacteriana” de todos los LNR y en el gráfico inferior los resultados de cada laboratorio en particular. En los gráficos de la Página 72 se pueden visualizar, a la izquierda los resultados generales de todos los LNR y la derecha los de cada laboratorio en particular, tanto en “Interpretación” como en los “Rangos aceptables de las zonas de inhibición” de las pruebas de sensibilidad.

Analizando la **Evolución de Indicadores de Calidad en la Identificación Bacteriana** (Página 71), se puede ver que la concordancia sufrió una leve disminución a través de las primeras 4 encuestas realizadas, probablemente debido a que en forma directa iba aumentando la complejidad del lote de cepas a tipificar. En las encuestas No. 5 y 6 observamos una significativa mejoría, no sólo considerando los valores cuantificables sino teniendo en cuenta que a estas encuestas se habían sumado 4 nuevos laboratorios que se debieron enfrentar a la complejidad de dos lotes de cepas sin haber recibido el entrenamiento de las encuestas anteriores. En la Encuesta No. 7, se sumaron otros 3 nuevos laboratorios, nuevamente notamos una disminución en la concordancia de la Tipificación Bacteriana con respecto a la Encuesta No. 6, que no estuvo relacionada al ingreso de los mismos al Programa. En las Encuestas No. 7, 8 y 9 se obtuvieron valores de concordancia en Tipificación Ideal cercanos a 80% y en la No. 10 la concordancia superó el 90%. En la Encuesta No. 11 la concordancia bajó a 75% debido a la incorporación de cuatro especies de mayor complejidad como es el caso de los bacilos Gram positivos aerobios no esporulados y esporulados (cepas OPS-105, OPS-106, OPS-109 y OPS-110) que se incorporaron por primera vez al panel de cepas. En la Encuesta No. 12, se incorpora otro nuevo laboratorio al Programa y nuevamente volvemos a experimentar una baja en el % de concordancia Ideal con respecto al esperado para un laboratorio de Referencia (no relacionada al ingreso del nuevo laboratorio) ya que solo se alcanzó el 68.9%. En la Encuesta 12, la falta de

concordancia se relacionó a cepas en las cuales los laboratorios vienen teniendo serias dificultades para poder resolver a través de todas las Encuestas como: *Enterococcus casseliflavus* (OPS-112), *Enterococcus raffinosus* (OPS-120), *Streptococcus mutans* (OPS-118), *Aeromonas caviae* (OPS-116) y *Salmonella* Enteritidis (OPS-117), donde el % de respuestas erróneas se encontró entre el 21.4 y 57%. En la Encuesta 13 no se observaron dificultades ya que los valores de concordancia se encontraron en el 92%. En la Encuesta 14 se observó una leve disminución en la concordancia, que fue del 87.7 %, debido a la inclusión de dos especies de mayor complejidad como *Arcanobacterium haemolyticum* OPS-136 y *Achromobacter xylosoxidans* OPS-139. En la Encuesta 15 prácticamente se alcanzó el objetivo, con 89% de concordancia con el Laboratorio de Referencia a pesar del envío de cepas en las que los laboratorios vienen teniendo serias dificultades para resolver como *Enterococcus casseliflavus* OPS-141 y *Enterococcus raffinosus* OPS-150, y al envío por primera vez de una cepa de un bacilo gram negativos no fermentadores de mayor complejidad (*P. stutzeri* OPS 148). En la Encuesta 16 se observó una leve disminución en la concordancia, que fue del 84 %, debido a dificultades en la identificación bacteriana de tres especies: *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* OPS-155, *Erysipelothrix rhusiopathiae* OPS-153 y *Serratia odorifera* OPS-156. En la Encuesta 17 se observó una disminución en la concordancia que fue del 77.2% debido a la inclusión de especies de mayor complejidad como *Chryseobacterium gleum/indologenes* OPS-164 y *Corynebacterium striatum* OPS-170. En la Encuesta 18 se observó una concordancia 85.4% (menor a la ideal); que se relacionó en parte a la inclusión de *Moraxella catarrhalis* OPS-179 y por otro lado al envío de cepas en las cuales los laboratorios vienen teniendo dificultades para poder resolver a través de las Encuestas anteriores como: *Enterococcus casseliflavus* (OPS-171) y *Salmonella* Enteritidis (OPS-117). En la Encuesta 19 prácticamente se alcanzó el objetivo, con 88% de concordancia con el Laboratorio de Referencia a pesar de que se enviaron por primera vez cepas de gran complejidad como *Aerococcus urinae* OPS-183, *Enterococcus gallinarum* OPS-185 y *Micobacterium fortuitum*. En la Encuesta 20 se superó el objetivo con 95% de concordancia y no se observaron dificultades en la Tipificación, a excepción de *A. xylosoxidans* OPS-197, donde la concordancia fue de 73.3%. En la Encuesta 21 la concordancia fue del 91% y las dificultades se concentraron en *E. aerogenes* OPS-202, *E. casseliflavus* OPS-207 y *Rothia mucilaginoso* OPS-210. En

la Encuesta 22 se observó una concordancia del 77.4%, esta disminución se debe a la incorporación de cepas de gran complejidad como *Moraxella lacunata* (OPS-220), *Streptococcus gallolyticus* subespecie *gallolyticus* (OPS-214) y *Aeromonas caviae* (OPS-215). En la Encuesta 23 la concordancia fue de 84.5%, la cual es muy buena si se tiene en cuenta la complejidad del panel enviado, que incluyó dos especies que no habían sido enviadas previamente, *Acinetobacter ursingii* (OPS 222) y *Propionibacterium acnes* (OPS 230). En la Encuesta 24 se observó una concordancia del 87.1%, y si bien no resultó la esperable para los LNR (idealmente $\geq 90\%$), es importante resaltar que una concordancia de 87.1% es muy buena si se tiene en cuenta la complejidad del panel enviado en esta oportunidad, donde se incorporan dos especies que no habían sido enviadas previamente y claramente refleja la dificultad que presentaron: *Myroides odoratus/odoratimimus* (OPS 231) y *Ochrobactrum* grupo *antrophii* (OPS 240).

En la encuesta 25 se observó una concordancia de 75.2%, buena si se tiene en cuenta la complejidad del panel enviado, donde se incorporó una especie que no había sido enviada previamente y presentó dificultad en la identificación como *Corynebacterium diphtheriae* (OPS 241), con solo 43% de concordancia. Asimismo otras tres especies enviadas presentaron dificultad en la identificación: *B. contaminans* (Complejo *Burkholderia cepacia*) (OPS 248) con 36% de concordancia, *Acinetobacter pittii* (Complejo *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*) (OPS 245) con 50% de concordancia y *A. veronii/sobria* con 69% de concordancia. En la Encuesta 26, las cepas que presentaron mayor dificultad en identificación fueron *S. bovis lutetiensis* (OPS 251) y *S. entérica* subespecie *entérica* serovariedad Kentucky (OPS 245).

En la Encuesta 27 la concordancia en la Identificación Bacteriana fue de 90,2%, y la única cepa que presentó dificultad en la identificación fue la *K. oxytoca* OPS 263, debido a que varios de los laboratorios participantes la identificaron erróneamente como *Raoutella* spp.

En la Encuesta 28 la concordancia en la Identificación Bacteriana fue de 94,6%, y la cepa que presentó mayor dificultad en la identificación fue la *R. kristinae* OPS 271 identificada correctamente por el 71% de los laboratorios participantes.

En la presente **Encuesta 29 la concordancia en la Identificación Bacteriana fue de 88,1%**, debido a que desafió a los laboratorios con cuatro especies bacterianas no enviadas previamente: *Vibrio vulnificus* (OPS 281), *S. suis* (OPS 283), *Comamonas*

kerstersii (OPS 284) y *Ralstonia incidiosa* (OPS 287). No observaron grandes dificultades en la identificación de OPS 281, OPS 283 y OPS 287, sin embargo ***C. kerstersii* (OPS 284)** fue la especie que presentó mayor desafío ya que solo pudo ser identificada a nivel de género y especie por el 50% de los LNRs (8/16 laboratorios).

Si se observa el gráfico de **Evolución de Indicadores** (Pag. 72) en la **“Interpretación de las Pruebas de Sensibilidad”**, se puede ver que se mantuvo más o menos estable a través de las Encuestas, superando el 90% de Concordancia aceptable para un Laboratorio de Referencia. A partir de la Encuesta 12 los criterios de evaluación para la interpretación de las pruebas de sensibilidad son mas estrictos que las primeras 11, ya que cuando los rangos de las zonas de inhibición se encuentren dentro de las tres categorías de interpretación (S, I o R) solo se considera como correcta la interpretación según el método de referencia de CIM. Por lo tanto, cuando se desee evaluar la Evolución del indicador “Interpretación”, lo estrictamente correcto sería evaluar independientemente las Encuestas 1 a 11 y por otro lado de la Encuesta 12 en adelante.

En esta Encuesta 29 la concordancia con la “Interpretación de las Pruebas de Sensibilidad” fue de 94,9%, superando el valor esperado para un Laboratorio de Referencia.

También en el gráfico de **Indicadores de Calidad** (Página 72), analizando los **“Rangos de las zonas de inhibición aceptables”**, lo ideal es que un Laboratorio de Referencia alcance una concordancia en las zonas de inhibición $\geq 80\%$. En esta Encuesta tuvimos un **90,9% de concordancia con las zonas de inhibición, con lo cual también superamos ampliamente el objetivo deseado.**

Si se observa el gráfico de uno de los nuevos **Indicadores** (Página 73) **“Mecanismo de resistencia inferido”**, se puede ver que la **concordancia con el LRR fue del 91,7% (Tabla 6, Página 22), alcanzando lo esperado para un Laboratorio de Referencia (mecanismo inferido $\geq 90\%$)**. En la tabla 21 se detalla la concordancia con el mecanismo de resistencia inferido por mecanismo.

Tabla 21. Concordancia (%) con el Mecanismo de Resistencia Inferido fenotípicamente.

Mecanismo de Resistencia Inferido	Cepa OPS	Concordancia en la detección (%)
Fenotipo salvaje	<i>Vibrio vulnificus</i> OPS 281	100
Carbapenemasa KPC mutante (KPC-57)	<i>K. aerogenes</i> OPS 282	75
Fenotipo salvaje	<i>S. suis</i> OPS 283	100
Resistencia a meticilina	<i>S. aureus</i> OPS 285	100
Mecanismo de resistencia combinado: KPC-2 + VIM-2	<i>P. putida</i> OPS 286	87,5
Carbapenemasa NDM-1	<i>A. baumannii</i> OPS 288	93,8
Mecanismo de resistencia combinado: KPC-2 + PER-2	<i>K. oxytoca</i> OPS 289	93,8
Mecanismo de resistencia combinado: KPC-2 + NDM-1 + CTXM-2 + CMY-6	<i>K. pneumoniae</i> OPS 290	87,5
Concordancia Global		91,7

La cepa que presentó mayor dificultad en detección del mecanismo de resistencia inferido en esta oportunidad fue OPS 282 *K. aerógenes* con resistencia a carbapenemes mediada por KPC-57, una nueva variante de KPC-2.

Para el resto de los mecanismos la eficiencia en la detección fue muy buena, superando el 87% en todos los casos.

Nuevamente, insistimos en que las dificultades deben tomarse como una excelente oportunidad para la revisión de protocolos de detección de mecanismos, actualización o incorporación de nuevas metodologías de diagnóstico, revisión bibliográfica y discusión en los equipos de trabajo.

Analizando la Tabla 6 **por laboratorio** (Pag. 22), podemos ver que en esta encuesta, la concordancia con el LRR en el “**Mecanismo de resistencia inferido**” fue \geq al 90% en

10/16 laboratorios (3, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 15 y 17), y en esta oportunidad todos ellos alcanzaron 100% de concordancia.

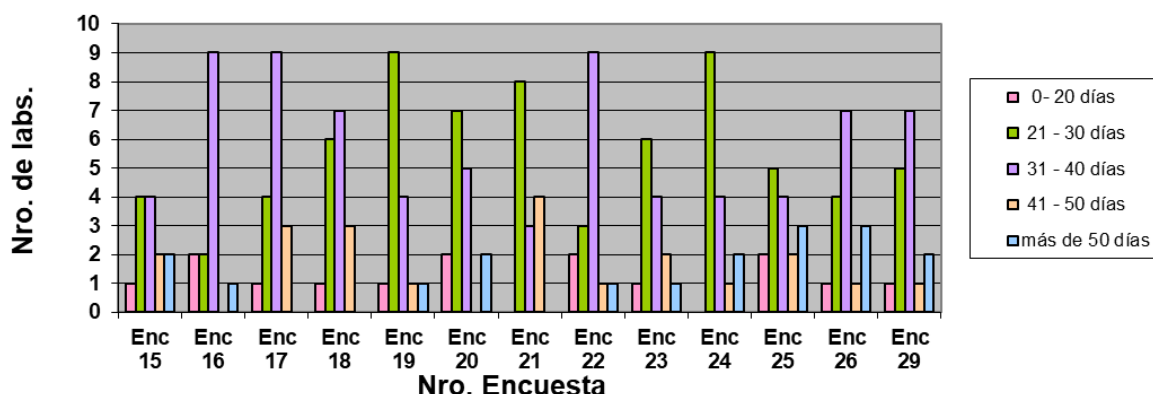
Tenga presente que con este **Indicador** se evalúa la **concordancia del mecanismo de resistencia fenotípicamente dominante**, ya que las respuestas de los laboratorios que informan mecanismos de resistencia adicionales (no presentes en la cepa evaluada) no son consideradas como completamente correctas. **En este indicador, la sobre-estimación de mecanismos de resistencia es considerado incorrecto.**

A partir de la Encuesta 21 se incorporaron al listado de “mecanismo de resistencia inferido” nuevos códigos correspondientes a MECANISMOS COMBINADOS, para que los laboratorios tengan la posibilidad en la medida de lo posible de indicar sólo una opción. RECORDAR QUE EL INFORME DE ESTE CAMPO ES OBLIGATORIO.

Dentro los indicadores de **Tiempo de Demora en la Respuesta** los parámetros evaluados fueron los siguientes: **a) Promedio o Media aritmética:** 38 días, **b) Mediana:** 39 días (número central de un conjunto de números), **c) Modo:** 40 días (valor más frecuente), **d) Desvío estándar:** 11 días y **e) Rango:** 20 a 60 días. **Analizando el “Tiempo de demora en la respuesta” podemos observar que el MODO fue mayor que en la Encuesta 26 (40 días versus 35 días) oportunidad en que este parámetro fue evaluado por última vez, luego no fue evaluado en las Encuestas 27 y 28 por las dificultades asociadas a la Pandemia de COVID-19.**

Analizando la Tabla 7 **por laboratorio (Pag. 21)**, podemos ver que en esta encuesta, el **Tiempo de demora en la Respuesta fue ≤ 30 días en 6/16 laboratorios. Excelente performance para los laboratorios 3, 6, 7, 9, 15 y 16 en este indicador.**

Tiempo de demora en la respuesta



CONCLUSIONES FINALES.

Podemos concluir que en la **Encuesta No. 29** los laboratorios participantes han tenido un muy buen desempeño y han aplicado los conceptos de mejoría continua de la calidad con éxito.

En esta oportunidad no hemos alcanzado la concordancia deseable para los Laboratorios de Referencia en la "Identificación Bacteriana" (88,1% vs $\geq 90\%$). Hemos superado la concordancia esperable en la "Interpretación de las pruebas de sensibilidad" (96,5%), en los "Rangos de las zonas de inhibición" (90,9%), y en el "Mecanismo de Resistencia Inferido" (91,7%).

Felicitaciones para los laboratorios 1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16 y 17 porque han obtenido una concordancia $\geq 90\%$ en Interpretación de las Pruebas de Sensibilidad y $\geq 80\%$ en los rangos de Zonas de Inhibición. Una mención especial para los laboratorios 3, 5, 6, 7, 9, 12, 13, 15 y 17 que además han obtenido una concordancia $\geq 90\%$ en el "Mecanismo de Resistencia Inferido", alcanzando así todos los objetivos evaluados en esta oportunidad para un Laboratorio de Referencia.

Para finalizar, en el siguiente cuadro se pueden resumir las **Conclusiones de la Encuesta 29 del Programa Latinoamericano Control de Calidad en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos**.

CONCLUSIÓN ENCUESTA N° 29

Los Laboratorios Participantes presentaron una concordancia con el Laboratorio Coordinador de:

88,1 % en Identificación Bacteriana

96,5 % en la Interpretación de las Pruebas de Sensibilidad

90,9 % con los Rangos de Zonas de Inhibición Aceptables

91,7 % en Mecanismo de Resistencia Inferido

39 días en Tiempo de Demora en la Respuesta (Modo)

Como mencionamos en la carta de presentación, queríamos adelantarles que debido a la excelente performance que fueron obteniendo la gran mayoría de los LNRs a través del tiempo, nos parece oportuno incluir un sexto **Indicador de Calidad**, que esté acorde a los desafíos que se nos plantean a los LNRs en RAM de ReLAVRA. Este nuevo indicador se pondrá en vigencia a partir de la **Encuesta N° 30 de 2023** y es la concordancia con el LRR en la **Detección de genes de resistencia de relevancia clínica**.

Para comenzar se evaluará la detección de los principales genes de relevancia clínica:

Beta-lactamasas de espectro extendido: *bla*CTXM, *bla*PER

Carbapenemasas: *bla*KPC, *bla*NDM, *bla*OXA-48like, *bla*VIM, *bla*IMP

AmpC plasmídico: *cm*y, *cit*

Meticilino resistencia: *mecA*

Resistencia a glucopéptidos: *vanA*, *vanB*, *vanC*

Resistencia a colistín: *mcr-1*

Resistencia a macrólidos: *erm*, *mef*, *lnu*

A modo de ejemplo le mostramos un modelo de Tabla que incluiremos en la planilla de Informe donde se podrán reportar los resultados obtenidos. Aquellos laboratorios que

no dispongan de las metodologías para evaluar los genes de resistencia solicitados, **no serán evaluados con este nuevo indicador.**

Gen evaluado	ND	NA	Resultado (Positivo/Negativo)
<i>blaKPC</i>			
<i>blaVIM</i>			
<i>blaCMY</i>			
<i>mecA</i>			
<i>vanA</i>			

ND: No Disponible

NA: No Aplica para la especie

Resultado: Informar como Positivo o Negativo

Tengan presente que si tuvieran la necesidad de incorporar cualquier método de diagnóstico a los laboratorios, durante estos años han recibido en múltiples oportunidades varios aislamientos con los presentes mecanismos de resistencia que perfectamente podrían ser utilizados como controles positivos para montar cualquier metodología, inclusive la PCR.

Queremos agradecer a todos los laboratorios por la participación del Programa y alentarlos para seguir avanzando en los nuevos desafíos que nos hemos propuesto entre todos.

Hasta la próxima Encuesta!!