

ARTÍCULO ESPECIAL

Consenso sobre las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en cocos gram-positivos

A. FAMIGLIETTI^{1,2*}, M. QUINTEROS^{2,4}, S. C. PREDARI³, A. CORSO³, H. LOPARDO³, J. M. CASELLAS^{3,4}, C. BANTAR⁴, E. COUTO⁴, M. GALAS⁴, M. GOLDBERG⁴, G. GUTKIND⁴, J. KOVENSKY PUPKO⁴, M. MARÍN⁴, F. NICOLA⁴, F. PASTERÁN⁴, M. RADICE⁴, R. SOLOAGA⁴

¹ Coordinación de la Subcomisión de Antimicrobianos, SADEBAC, AAM,

² Coordinación del Consenso, ³ Expertos invitados, ⁴ Subcomisión de Antimicrobianos SADEBAC - AAM, Bulnes 44 PB B, 1176, Buenos Aires, Argentina.

* Correspondencia. E-mail: famiglie@ffyb.uba.ar / afamiglietti@dbc.ffyb.uba.ar

RESUMEN

El antibiograma por difusión en agar con discos se encuentra ampliamente difundido en nuestro medio y se basa principalmente en las recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). En este documento se elaboraron una serie de recomendaciones para el ensayo, lectura, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en cocos gram-positivos, adaptadas a la realidad argentina. En esta primera etapa se redactaron las consideraciones generales para la realización de la prueba por difusión, los controles de calidad internos para todos los microorganismos y una actualización sobre las pruebas de sensibilidad en cocos gram-positivos. Se debe resaltar que el contenido de este documento debe ser considerado como recomendaciones realizadas por expertos argentinos y que son el resultado de reuniones de consenso organizadas por la Subcomisión de Antimicrobianos de la Sociedad Argentina de Bacteriología Clínica, división de la Asociación Argentina de Microbiología. Se formó un equipo de trabajo integrado por expertos en antimicrobianos y a partir de una propuesta inicial, basada en una revisión de la literatura se fueron elaborando diversos documentos de trabajo que fueron mejorados después de ser debatidos por los miembros del grupo de trabajo hasta llegar al documento final. El criterio general fue elaborar recomendaciones acordes a las necesidades de nuestro país que puedan utilizarse en la práctica diaria con el objeto de colaborar en la adecuada elección del tratamiento antibiótico según la especie bacteriana aislada y la localización de la infección.

Palabras claves: prueba de sensibilidad, antimicrobianos, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*

SUMMARY

Consensus for antimicrobial susceptibility testing for gram-positive cocci. Antimicrobial susceptibility testing is mainly performed in Argentina by disk diffusion method, following National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recommendations. We worked out new recommendations for the reporting and interpretation of this test when dealing with gram-positive cocci, in accordance to local trends and epidemiology. General considerations for performing the diffusion assay, quality control, and an update on susceptibility testing for gram-positive cocci are reported in this first document. The present update should be considered as a group of recommendations summarized by Argentinean experts and as the result of a consensus meeting coordinated by the Subcomisión de Antimicrobianos of the Sociedad Argentina de Bacteriología Clínica (Asociación Argentina de Microbiología). Experts in antimicrobial agents were convened in order to prepare this final document. These recommendations take into account local needs, affordability and availability to be used in current practice, tending to contribute to the correct antimicrobial treatment election, according to the particular microorganism and the infection sites.

Key words: susceptibility testing, antimicrobial, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*

INTRODUCCIÓN

Existen diversas asociaciones científicas a nivel mundial: British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC), National Committee for Laboratory Standards (NCCLS), Mesa Española de Normalización de la Sensibilidad y Resistencia a los Antimicrobianos (MENSURA), Comité de l'Antibiograma de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM), European Committee on Susceptibility Testing (EUCAST), etc, que se ocu-

pan de la estandarización de la metodología de la prueba de sensibilidad "in vitro" y de su interpretación. Adoptamos como base las recomendaciones del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) de los EEUU por su amplia difusión internacional. Si bien satisfacen las necesidades de microbiólogos de diferentes países, tiene algunos aspectos que deben ser adaptados a la realidad argentina.

Estas recomendaciones están dirigidas al microbiólogo clínico para unificar criterios de ensayo e informe

del antibiograma con el objeto de colaborar en la elección adecuada del tratamiento según el germen aislado y la localización de la infección.

CONSIDERACIONES GENERALES PARA LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR CON DISCOS Y LOS CONTROLES DE CALIDAD INTERNOS

Los criterios de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad se realizaron según las recomendaciones del NCCLS y las modificaciones (texto subrayado) que la Subcomisión de Antimicrobianos (SADEBAC) y el grupo de expertos invitados sugirió para cada situación en particular.

1. Metodología

Se utilizó la recomendada por el NCCLS, documentos M2-A7 y M7-A5 del año 2000 (45,46) y el suplemento M100 S12 del año 2002 (47).

Consideramos aceptable:

- Ensayar 6 monodiscos por placa de 9 cm de diámetro y 12 por placa grande de 15cm.
- Realizar 2 controles de calidad internos por mes, con las cepas ATCC y cada vez que se cambie la partida del frasco de medio de cultivo y/o vial de antibiótico. En el Cuadro 1 se detallan las cepas ATCC que se deberían ensayar con cada uno de los antibióticos.

2. Lectura del antibiograma

Se deberá realizar con la placa invertida e iluminación directa evitando el reflejo de la luz. No se deberá considerar la presencia de pátina o microcolonias dentro del halo de inhibición en la interpretación de los resultados (excepto *Staphylococcus* spp vs oxacilina y glucopéptidos y *Enterococcus* spp vs glucopéptidos).

En la lectura del halo de inhibición de trimetoprima/sulfametoxazol se deberá ignorar un crecimiento menor del 20%, considerando en la medición, el halo más nítido. En *Proteus* spp. deberá ignorarse la disminución del halo producido por la invasión.

El tiempo y las condiciones de incubación para cada grupo de microorganismos se detallan a continuación:

- **Requieren 16 a 18 h de incubación:** microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* (excepto cepas mucosas), *Acinetobacter* spp, *Staphylococcus* spp (excepto para oxacilina y glucopéptidos), *Enterococcus* spp (excepto para glucopéptidos) y *Haemophilus* spp (en aquellas cepas que no presenten desarrollo visible podría prolongarse la incubación 20 a 24 h).
- **Requieren 20 a 24 h de incubación:** *Streptococcus pneumoniae*, estreptococos beta hemolíticos (EBH), estreptococos grupo *viridans* y *Neisseria gonorrhoeae*.

- **Requieren 24 h de incubación:** *Staphylococcus* spp frente a oxacilina y glucopéptidos y *Enterococcus* spp frente a glucopéptidos.

En ambas situaciones, para examinar correctamente los halos de Inhibición será necesario trabajar con luz transmitida y considerar las microcolonias presentes en el interior del halo de inhibición.

P. aeruginosa (cepas mucosas) aisladas de pacientes con enfermedad fibroquística, requieren las siguientes consideraciones:

- Cuando se aislen diferentes morfotipos, se deberá realizar la prueba de sensibilidad a cada uno de ellos separadamente.
 - En aquellos casos donde no pueda realizarse las lecturas de los halos de inhibición a las 24 h, se sugiere prolongar la incubación un total de 48 h.
- **Requieren atmósfera de dióxido de carbono (5% CO₂):** *Haemophilus* spp, *S. pneumoniae*, *Streptococcus* spp y *N.gonorrhoeae*

3. Interpretación e informe de resultados

Los antibióticos propuestos para ensayar permiten mantener una vigilancia epidemiológica.

Para la resolución de casos puntuales se podrá ensayar solamente lo que se informará de acuerdo al sitio de infección según el vademecum hospitalario consensuado con el Comité de Infecciones.

Con las lecturas obtenidas y teniendo en cuenta el microorganismo aislado se establecen las categorías de sensible, intermedio y resistente de acuerdo a los puntos de corte establecidos por el NCCLS o este grupo de trabajo.

Para el informe de la categoría intermedia se deberá tener en cuenta la localización de la infección y la farmacocinética del antibiótico ensayado.

COCOS GRAM POSITIVOS DE IMPORTANCIA CLINICA

Staphylococcus spp

Consideraciones generales

En el Cuadro 2 se detallan los antimicrobianos que se sugiere ensayar con fines epidemiológicos y los que se sugiere informar según la localización de la infección.

En estafilococos, la sensibilidad o resistencia a los antibióticos β-lactámicos puede detectarse utilizando solamente los discos de penicilina y oxacilina.

Los aislamientos de estafilococos sensibles a penicilina (β-lactamasa negativa) son también sensibles a otras penicilinas (amino, carboxi y acilureidopenicilinas), a las penicilinas resistentes a las penicilinasas (oxacilina y meticilina) y cefalosporinas (excepto ceftazidima, cefixima y ceftibuteno). Los estafilococos son resistentes a los

Cuadro 1: Cepas ATCC recomendadas para el control de calidad de la prueba de difusión (adaptado de NCCLS M2-A7)

Antimicrobiano	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E.coli</i> ATCC 35218	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603
Penicilina		1er.				
Aminopenicilinas	1er.	2da.				
Carboxipenicilinas	2da.		1er.			
Ureidopenicilina						
Oxacilina		1er.				
Beta-lactámicos con inhibidores de beta-lactamasas				1er.		
Ampicilina/sulbactama	1er.	2da.		1er.		
Amoxicilina/clavulánico	1er.	3er.	2da.	1er.		
Piperacilina/tazobactama	1er.	3er.	2da.	1er.		
ticarcilina/clavulánico	1er.					
Cefalosporinas de 1ra., 2da gener	1er.	2da.				
Cefalosporinas de 3ra., 4ta gener	1er.	3er.	2da.			1er.
Cefalosporinas de 3ra., 4ta gener						
Anti-Pseudomonadales	2da.	3er.	1er.			
Carbapenemes	2da.	3er.	1er.			
Aminoglucósidos	2da.	3er.	1er.			
Macrólidos y lincosamidas		1er.				
Glucopéptidos		1er.				
Ac. Nalidíxico	1er.					
Fluorquinolonas	2da.	3er.	1er.			
Trimetoprima / sulfametoxazol	1er.	2da.			1er.	
Tetraciclinas	1er.	2da.				
Rifampicina	2da.	1er.				
Nitrofuranos	1er.					
Quinupristina/Dalfopristina		1er.				
Linezolid		1er.				
Aminoglucósidos de alta carga					1er.	

1er, 2do y 3ro: indican el orden de prioridad en la elección de cepas ATCC para la realización de las pruebas de sensibilidad. Este orden se fundamenta en aquellas combinaciones cepa de referencia / antibiótico que será más sensible a las alteraciones de las condiciones del ensayo.

Para el control de timina/timidina en el medio de cultivo deberá utilizarse *E. faecalis* ATCC 29212 o *E. faecalis* ATCC 33186. *P. aeruginosa* ATCC 27853 como control del contenido del medio de cultivo de cationes bivalentes de Ca y Mg.

antibióticos monobactámicos (aztreonam) como todas las bacterias gram positivas.

Las cepas productoras de β -lactamasa, oxacilino-sensibles son resistentes a las penicilinas (aminopenicilinas, carboxi y ureidopenicilinas), pero sensibles a β -lactámicos asociados a inhibidores de β -lactamasas, cefalosporinas y carbapenemes.

Frente a cepas oxacilino-sensibles las cefalosporinas de primera generación y cefuroxima son las que presentan mayor actividad antiestafilocócica y de las cefalosporinas de espectro extendido, cefepima es la que presenta mayor actividad antiestafilocócica.

Las cepas oxacilino-resistentes deben considerarse resistentes a todos los antibióticos β -lactámicos y a sus asociaciones con los inhibidores de β -lactamasas. Cuando se aísla una cepa oxacilino-resistente, se sugiere indi-

car al pie del informe: "La resistencia a oxacilina indica resistencia a todos los antibióticos β -lactámicos asociados o no a inhibidores de β -lactamasas".

Nuevos antibióticos como linezolid (oxazolidinona), quinupristina/dalfopristina, y nuevas fluorquinolonas (moxifloxacina, gatifloxacina, etc) deben incluirse sólo frente al aislamiento de cepas multi-resistentes.

En *Staphylococcus saprophyticus*, se sugiere realizar prueba de sensibilidad a fluorquinolonas, nitrofuranos y cotrimoxazol, a pesar de que el NCCLS no lo recomienda.

1. Resistencia a metilicina

La resistencia a metilicina se detecta con el disco de oxacilina porque es más estable que la metilicina y además, detecta más eficientemente las cepas heterorresistentes. Históricamente los estafilococos resistentes a

Cuadro 2: Antimicrobianos recomendados para ensayar e informar en *Staphylococcus* spp

Antibiótico	Ensayar	Informar		
		Orina A	Otros I	LCR
Penicilina	X			
Ampicilina ⁽¹⁾		X	X	X
Ampicilina/sulbactam ^a		X	X	X
Oxacilina	X	X	X	X
Cefalotina ⁽¹⁾		X	X	CXM ¹
Gentamicina	X	X ⁽²⁾	X	X
Eritromicina	X		X	
Clindamicina	X		X	
Rifampicina	X		X	X
Minociclina	X		X	
Cotrimoxazol	X	X	X	X
Vancomicina ⁽³⁾	X		X	X
Teicoplanina ⁽²⁾	X		X	X
Ciprofloxacina	X		X	X
Norfloxacina ⁽⁴⁾	X	X	X	
Nitrofurantoinas ⁽⁴⁾	X	X	X	

A: ambulatorio, I: internado, CXM: cefuroxima ⁽¹⁾ Ampicilina, ampicilina/sulbactama, cefalotina y cefuroxima informar de acuerdo al resultado de oxacilina. ⁽²⁾ Sólo cuando se aísla *S. aureus*. ⁽³⁾ No informar en casos de aislamientos oxacilino-sensibles. ⁽⁴⁾ Ensayar e informar solamente en infección del tracto urinario.

los β -lactámicos antiestafilocócicos estables a las penicilinas han sido referidos como SAMR (*S. aureus* meticilino-resistente) o SMR (*Staphylococcus* meticilino-resistente). En este documento para designar la resistencia a estos agentes se utiliza el término meticilino-resistencia u oxacilino-resistencia. Para su detección deben tenerse en cuenta los siguientes ensayos según la especie aislada:

A. *Staphylococcus aureus*:

Halo de oxacilina \leq a 10 mm: RESISTENTE

Observar la presencia de resistencia acompañante a: gentamicina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina (no minociclina), cloranfenicol y ciprofloxacina.

- **Con resistencia acompañante:** Informar resistente a oxacilina
- **Sin resistencia acompañante:** Confirmar el resultado, controlar los discos de oxacilina y realizar la placa de agar "screening" (agar Mueller Hinton con 6 μ g/ml de oxacilina y 4% de NaCl) (61).

"Screening" (+): Informar resistente a oxacilina.

"Screening" (-) y Disco Confirmado: Detección del gen *mec A* o PLP 2a (62). Este es un fenotipo infrecuente.

Halo entre 11 y 12 mm

Independientemente de la resistencia acompañante: Realizar la placa de agar "screening".

"Screening" (+): Informar resistente a oxacilina

"Screening" (-): Detección del gen *mec A* o PLP2a

Halo entre 13 y 17 mm (10)

Con resistencia acompañante: Realizar la placa de agar "screening"

"Screening" (+): Informar resistente a oxacilina.

"Screening" (-): Detección del gen *mec A* o PLP 2^a

Sin resistencia acompañante: Informar sensible a oxacilina.

Halo de oxacilina \geq 18 mm: SENSIBLE

Se debe considerar sensible independientemente de la resistencia acompañante.

Para la detección de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus* se sugiere seguir las indicaciones de la Figura 1.

B. Estafilococos coagulasa negativos (ECN):

Halo de oxacilina \leq a 17 mm (65):

- En *Staphylococcus epidermidis*, informar resistente a oxacilina independientemente de la resistencia acompañante
- Existen trabajos documentados que este criterio **podría** utilizarse para *S. haemolyticus* y *S. hominis* (28).
- En ECN diferentes a *S. epidermidis*, aislados de infecciones severas, se debería recurrir a la detección del gen *mec A* o la PLP 2a para confirmar la resistencia a oxacilina (27,39,68,69).

Halo de oxacilina \geq 18 mm: SENSIBLE

- Considerar sensible en todas las especies de estafilococos coagulasa-negativos.

2. Disminución de la sensibilidad a vancomicina

Se debería realizar su detección en casos puntuales de falla de tratamiento con vancomicina y ante una CIM \geq 4 μ g/ml. Se considera sensibilidad disminuida a vancomicina cuando la CIM es \geq 8 μ g/ml. En *S. aureus*, estas cepas se conocen como VISA o GISA (58,63).

El CDC considera una cepa VISA cuando se cumplen simultáneamente los siguientes tres criterios (64):

1. Concentración inhibitoria mínima de vancomicina = 8 - 16 μ g/ml (utilizando dilución en caldo o agar Mueller Hinton, con inóculo según lo recomendado por el NCCLS para cada caso y 24 h de incubación).
2. Concentración inhibitoria mínima de vancomicina, utilizando Etest \geq 6 μ g/ml (agar Mueller Hinton, con inóculo equivalente a 0,5 de Mc Farland y 24 h de incubación).
3. Desarrollo de una o más colonias en la placa de "screening" de agar cerebro corazón (agar BHI) con 6 μ g/ml de vancomicina (inóculo: 10 μ l de una suspensión equivalente a 0,5 de Mc Farland y 24 h de incubación).

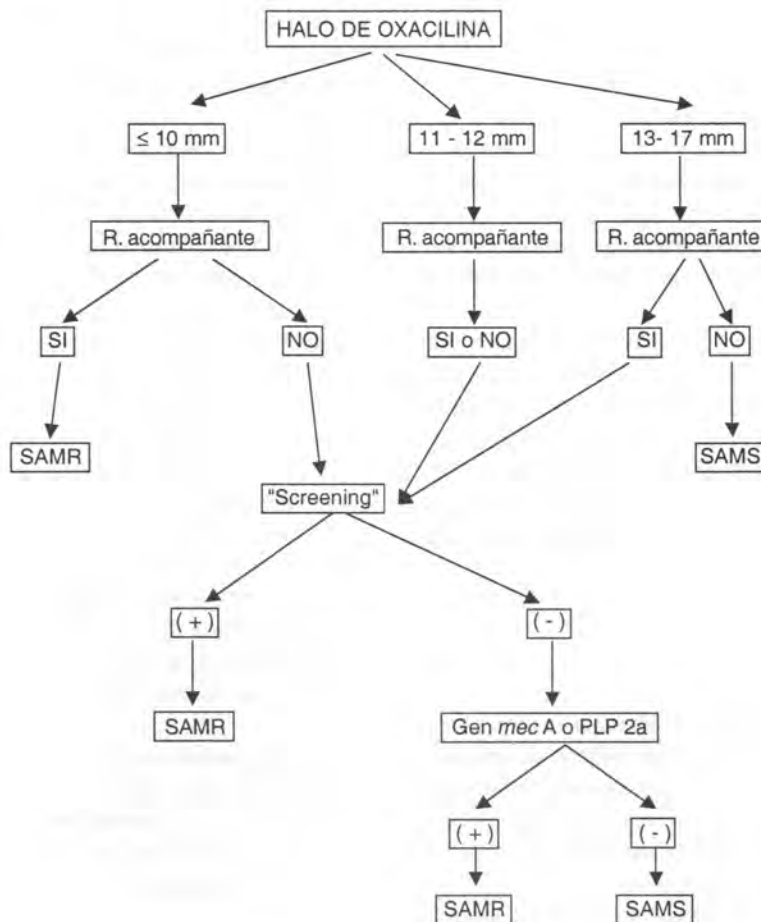


Figura 1. Algoritmo para la detección de resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*

No obstante, este grupo de trabajo considera que la presencia de dos o más de los criterios establecidos por el CDC deberían alertar sobre la posibilidad de una cepa VISA.

El método de difusión por disco no es adecuado para detectar disminución en la sensibilidad a vancomicina, no obstante un halo ≤ 14 mm debería confirmarse con los tres criterios del CDC.

En *S. aureus* los halos de inhibición a teicoplanina ≤ 13 mm deben ser confirmados con la CIM a teicoplanina. En ECN meticilino-resistentes es más frecuente la resistencia a teicoplanina y no sería necesario confirmarla.

Recientemente, se ha descrito en EEUU el primer aislamiento de *S. aureus* con resistencia de alto nivel a vancomicina (VRSA), portador del gen *van A*, con CIM a vancomicina > 128 $\mu\text{g/ml}$ y CIM a teicoplanina > 32 $\mu\text{g/ml}$. Debido al alto nivel de resistencia no presentaría dificultades en la detección por el método de difusión con discos (13).

3. Resistencia a macrólidos y lincosamidas

Para detectar los diferentes fenotipos de resistencia a macrólidos se recomienda colocar el disco de clinda-

micina (Clin) a 2 cm de eritromicina (Eri). En ECN la presencia de lincosamida nucleotidiltransferasa, lin A y lin A' (no habitual en *S. aureus*) se detecta más eficientemente con lincomicina (Lin).

Los fenotipos de resistencia que se pueden observar son: Demetilación ribosomal inducible y constitutiva (iMLS_B y cMLS_B respectivamente), probable eflujo (M) y menos frecuentemente, lincosamida nucleotidiltransferasa (L) (33,51).

Interpretación de los fenotipos:

- FENOTIPO iMLS_B (Eri-R, Clin-S con achatamiento del halo de Clin): Informar resistente a eritromicina y clindamicina.
- FENOTIPO cMLS_B (Eri-R, Clin-R): Informar resistente a eritromicina y clindamicina.
- FENOTIPO M (Eri-R, Clin-S sin achatamiento del halo de Clin): Informar resistente a eritromicina y sensible a clindamicina.
- FENOTIPO L (Eri-S y Lin-R): Informar tal cual, recordar que es un mecanismo muy infrecuente.

Enterococcus spp

Consideraciones generales

Los enterococos presentan resistencia natural o intrínseca a las cefalosporinas, aminoglucósidos (bajo nivel de resistencia), clindamicina y cotrimoxazol ("in vivo").

Los discos de alta carga (gentamicina 120 µg y estreptomycinina 300 µg) se utilizan para predecir sinergia entre penicilina, ampicilina o vancomicina y un aminoglucósido (60).

Frente al aislamiento de enterococos vancomicina-resistentes (EVR) deberá ensayarse: tetraciclina, doxiciclina o minociclina, cloranfenicol, rifampicina, linezolid, quinupristina/dalfopristina (solo en *E. faecium*) y nuevas fluorquinolonas. Si bien el NCCLS recomienda ensayar eritromicina, datos obtenidos en nuestro país indican una resistencia mayor al 90%, por lo tanto sugerimos no probarla (2,55)

Los antimicrobianos que se sugieren ensayar e informar se detallan en el Cuadro 3.

1. Resistencia a ampicilina

La resistencia a ampicilina por hiperproducción y/o alteración en la PLP5 (detectada con el disco de ampicilina/penicilina) es poco frecuente en *E. faecalis*, mientras que sí lo es en *E. faecium* y *E. raffinosus*. Se debe tener en cuenta que estas dos últimas especies generalmente presentan resistencia a carbapenemes.

La presencia de β-lactamasa, si bien es excepcional, no se detecta con el disco de penicilina o ampicilina, pero es eficientemente detectada por el método de nitrocefín (35,36,43). Siempre debería realizarse esta prueba rápida en aislamientos provenientes de sangre, LCR y hueso. Esta β-lactamasa inactiva a todas las penicilinas y es

Cuadro 3: Antimicrobianos sugeridos para ensayar e informar en *Enterococcus* spp

Antibiótico	Ensayar	Informar	
		Orina	Otros Sitios
Ampicilina ⁽¹⁾	X	X	X
Gentamicina (120 ug) ⁽²⁾	X		X
Estreptomycinina (300ug) ⁽²⁾	X		X
Vancomicina ⁽³⁾	X		X
Teicoplanina ⁽³⁾	X		
Ciprofloxacina ⁽⁴⁾	X	X	
Nitrofurantoina ⁽⁵⁾	X	X	

⁽¹⁾ En los enterococos no productoras de β-lactamasa, la sensibilidad a ampicilina predice sensibilidad a las amino y acilureidopenicilinas (no a las carboxipenicilinas) y a las penicilinas asociadas a los inhibidores de β-lactamasas (ampicilina/sulbactama, amoxicilina/clavulánico y piperacilina/tazobactama). ⁽²⁾ Informar sólo en aislamientos provenientes de sangre, LCR y hueso. ⁽³⁾ Vancomicina y teicoplanina solamente se informan en aislamientos resistentes a ampicilina. ⁽⁴⁾ Ensayar e informar sólo en aislamientos provenientes del tracto urinario de pacientes del sexo masculino. ⁽⁵⁾ Ensayar sólo en aislamientos provenientes del tracto urinario.

inhibida eficientemente por los inhibidores de β-lactamasas y habitualmente esta codificada en plásmidos que también codifican resistencia a gentamicina (42).

2. Alto nivel de resistencia a los aminoglucósidos

El alto nivel de resistencia (ANR) a los aminoglucósidos predice falta de sinergia cuando se los asocia a penicilina, ampicilina o vancomicina, sin embargo, CIMs < 2000 µg/ml no la garantizan (50).

Se puede detectar utilizando discos de alta carga de gentamicina (120 µg) y estreptomycinina (300 µg). No es necesario ensayar otros aminoglucósidos debido a que el ANR a gentamicina se debe a la presencia de una enzima bifuncional (APH 2"-AAC 6 I) que afecta a amicacina, kanamicina, tobramicina y netilmicina, pero no a estreptomycinina (15).

Enterococcus faecium presenta resistencia natural a amicacina, kanamicina, netilmicina y tobramicina por la presencia de la enzima cromosómica AAC 6" que no afecta a gentamicina ni a estreptomycinina (15).

Para detectar el ANR a los aminoglucósidos se deben tener en cuenta los siguientes halos de inhibición:

- Halo de gentamicina y / o estreptomycinina con discos de alta carga ≥ 10 mm
 - Indica bajo nivel de resistencia a los aminoglucósidos
 - Predice sinergia cuando se asocian a ampicilina, penicilina o vancomicina.
- Halo de gentamicina y / o estreptomycinina entre 7 y 9 mm
 - Confirmar con curvas de letalidad
 - En aquellas cepas con CIM de gentamicina = 128–500 µg/ml y CIM de estreptomycinina = 512-1000 µg/ml se observó falta de sinergia cuando se asociaron los aminoglucósidos (34).
- Halo de gentamicina y/o estreptomycinina ≤ 6 mm
 - Cepa con ANR, predice falta de sinergia cuando se asocian a ampicilina, penicilina o vancomicina.

3. Resistencia a glucopéptidos

La resistencia a glucopéptidos se presenta con mayor frecuencia en *E. faecium* siendo el fenotipo prevalente: Van A (alto nivel de resistencia a vancomicina y teicoplanina), detectada eficientemente por el método de difusión por discos (17).

El fenotipo Van B (moderada o alto nivel de resistencia a vancomicina y sensibilidad a teicoplanina) es poco prevalente en nuestro país (41). Deberá tenerse en cuenta que aislamientos con moderada resistencia pueden no ser detectados por el método de difusión.

El método de "screening" (BHI agar / 6 µg/ml vancomicina), detecta todos los fenotipos de EVR, incluso los Van C (moderada resistencia a vancomicina y sensibilidad a teicoplanina), presentes en *E. gallinarum* y *E. casseliflavus/ flavescens*. A diferencia de los fenotipos Van A y

Van B; Van C no es transferible y en consecuencia carece de importancia epidemiológica. A través de la movilidad a 30 °C, α metil glucopiranosido (MGP) y la presencia de pigmento amarillo se pueden identificar estas especies (móviles y MGP positivas). Solamente *E. casseliflavus/flavescens*, presentan pigmento amarillo (21).

Estreptococos beta-hemolítico (EBH) grupo A (*Streptococcus pyogenes*)

En *Streptococcus pyogenes* el NCCLS no recomienda ensayar penicilina ni ningún otro antibiótico β -lactámico, ni vancomicina, ya que no se encontraron, hasta el presente, cepas resistentes. Si bien la penicilina es la droga de elección, frente a infecciones por EBH, también son activas las aminopenicilinas, acilureidopenicilinas, cefalosporinas (cefalotina, cefuroxima, ceftriaxona, cefotaxima, cefepima) y los carbapenemes.

Para evaluar los mecanismos de resistencia a macrólidos, efectuar la prueba de difusión en agar Mueller Hinton con 5% de sangre desfibrinada de oveja colocando los discos de eritromicina y clindamicina enfrentados a una distancia de 20 mm. Los fenotipos descritos son: iMLSb, cMLSb y el M (56). Estudios epidemiológicos realizados en nuestro país, sobre *S. pyogenes* resistentes a eritromicina, demostraron la presencia del fenotipo M (probable eflujo) en más del 90% de los aislamientos (9,22,38,57).

La resistencia a eritromicina, en términos generales predice resistencia a: roxitromicina, claritromicina y azitromicina (40). La actividad de telitromicina (cetólido) debe evaluarse independientemente (9,40)

En pacientes con infecciones invasivas por estreptococo del grupo A se debe informar clindamicina además de penicilina, ya que en estas situaciones clindamicina ofrece la ventaja de actuar sobre grandes inóculos de microorganismos, estreptococos en fase estacionaria y además, por ser inhibidor de la biosíntesis de proteínas, es capaz de inhibir la producción de exotoxinas y proteína M que juegan un rol importante en la patología mencionada (37).

Frente al aislamiento de *S. pyogenes*, cualquiera fuera su localización se deberá indicar que continúan siendo universalmente sensibles a penicilina, hasta el presente. No obstante en raros casos de endocarditis y meningitis es conveniente efectuar la determinación de

la CIM a penicilina para asegurarse de no estar en presencia de alguna cepa aberrante que pudiera tener otro comportamiento frente a los β -lactámicos

En el Cuadro 4 se detallan los antimicrobianos sugeridos para ensayar e informar en *S. pyogenes*

Estreptococos beta-hemolíticos de los grupos B, C y G

En estreptococos de los grupos B, C y G, si bien con escasa frecuencia, se pueden aislar cepas con sensibilidad disminuida a penicilina (halos ≤ 23 mm) deberá confirmarse con la CIM. Habitualmente presentan CIM = 0,125- 0,25 $\mu\text{g/ml}$ (66).

En *Streptococcus agalactiae* es importante determinar el mecanismo de resistencia a macrólidos, cuando se aísla de embarazadas alérgicas a penicilina que deben recibir profilaxis intraparto con clindamicina. El fenotipo M puede no ser el prevalente (22).

En las meningitis por *S. agalactiae*, tanto de pacientes neonatos como de adultos, la penicilina asociada a gentamicina tiene mayor eficacia clínica (5, 29, 67).

Estreptococos del grupo viridans (EGV):

S. mitis, *S. mutans*, *S. anginosus*, *S. salivarius* y *S. bovis*

En estos microorganismos es frecuente el aislamiento de cepas con sensibilidad intermedia o resistencia a penicilina (8, 19, 23), pero el NCCLS no recomienda utilizar la prueba de difusión con disco para detectarla.

Frente al aislamiento de EGV de sitios normalmente estériles como sangre, LCR y otros, se recomienda realizar prueba de dilución para conocer la sensibilidad a penicilina, y curva de letalidad cuando se necesita conocer el efecto bactericida. Los puntos de corte de penicilina (CIM), considerados por el NCCLS para categorizar el aislamiento como sensible, intermedio o resistente se detallan en el Cuadro 5.

En el caso puntual de la endocarditis bacteriana, existen recomendaciones de otras sociedades científicas para el uso de terapia combinada con aminoglucósidos en función de los valores de CIM a penicilina Cuadro 6 (25, 45).

Cuadro 4: Antimicrobianos sugeridos para ensayar e informar en *Streptococcus pyogenes* (grupo A)

Antibiótico	Ensayar	Informar	
		Fauces	Otros
Eritromicina	X	X ⁽¹⁾	
Clindamicina	X	X ⁽¹⁾	X

⁽¹⁾ Informar solamente cuando se detecta resistencia a eritromicina

Cuadro 5: Puntos de corte para penicilina en estreptococos grupo viridans (NCCLS)

	CIM ($\mu\text{g/ml}$)
Sensible	$\leq 0,125$
Intermedio	0,25 - 2
Resistente	≥ 4

Cuadro 6: Recomendaciones de diferentes sociedades científicas para el uso de terapia combinada de penicilina con aminoglucósidos en el tratamiento de la endocarditis bacteriana por estreptococos grupo *viridans*

Entidad	CIM ($\mu\text{g/ml}$) Penicilina	Utilización de aminoglucósido
NCCLS	$\leq 0,1$	No
	0,25-2	Si
AHA	$\leq 0,1$	No
	0,25	2 semanas
	$\geq 0,5$	4 semanas
BSAC	$\leq 0,1$	2 semanas
	$\geq 0,25$	4 semanas

NCCLS: National Committee of Clinical Laboratory Standard, AHA: American Heart Association, BSAC: British Society for Antimicrobial Chemotherapy.

Cabe destacar que para evaluar la sinergia bactericida de la combinación, penicilina/aminoglucósido, deberá realizarse la correspondiente curva de letalidad.

Las especies con mayor resistencia a penicilina son las que constituyen el grupo *S. mitis* (7, 32, 52), mientras que el grupo *S. anginosus* es habitualmente más sensible (32). *Streptococcus bovis* habitualmente presenta sensibilidad intermedia a penicilina y/o tolerancia.

Variantes Nutricionales (VN):

Abiotrophia defectiva, *Granulicatella adiacens*, *G. paraadiacens* y *G. elegans*

Frente al aislamiento de VN (16, 30) no se recomienda realizar antibiograma por difusión. En estos casos se debería realizar la CIM por el método de dilución en medio líquido o Etest. Para la dilución en medio líquido, el medio de cultivo a utilizar es el caldo Mueller Hinton suplementado con 3 a 5% de sangre lisada de caballo, 0,001% de clorhidrato de piridoxal y 0,01% de clorhidrato de L- cisteína. El inóculo a utilizar debe tener una turbiedad equivalente a la del tubo N° 1 de la escala de Mc Farland (24). El agar Isosensitest es el medio recomendado por algunos autores para efectuar las pruebas de sensibilidad con tiras de Etest (20). Este medio no se encuentra disponible en el mercado argentino por lo que recomendamos utilizar agar Mueller Hinton. A cualquiera de estos medios se le deberá agregar 5% de sangre desfibrinada de oveja, 0,001% de clorhidrato de piridoxal y 0,01% de L- cisteína. En ambos casos la incubación deberá realizarse en presencia de 5% de CO₂ durante un total de 24 h (16,30).

Las VN frecuentemente presentan sensibilidad disminuida o tolerancia a penicilina. Son habitualmente sensibles a vancomicina, macrólidos, clindamicina, rifampicina y cloranfenicol. Suelen presentar sensibilidad variable a

tetraciclinas, aminoglucósidos y cefalosporinas (20, 24, 44, 59).

Streptococcus pneumoniae

En el Cuadro 7 se detallan los antimicrobianos que se sugieren ensayar con fines epidemiológicos y los que se sugieren informar. A continuación se detalla la actividad de los diferentes antimicrobianos en neumococos sensibles y resistentes a penicilina.

1. Resistencia a β -lactámicos

Oxacilina es el único antibiótico β -lactámico que se debe ensayar en la prueba de sensibilidad por el método de difusión en agar. La sensibilidad a oxacilina predice sensibilidad a: penicilina, ampicilina, amoxicilina (solas y combinadas con los inhibidores de β -lactamasas, sulbactam y ácido clavulánico), cefotaxima, ceftriaxona, cefepima, cefuroxima imipenem y meropenem.

Frente al aislamiento de una cepa resistente a oxacilina (halo ≤ 19 mm) se debe recurrir a la realización de la CIM a penicilina (dilución o Etest) para determinar el nivel de resistencia.

Ocasionalmente se pueden aislar cepas resistentes a oxacilina, pero sensibles a penicilina (CIM $\leq 0,06$ $\mu\text{g/ml}$). En este caso podría tratarse de alteraciones en la PLP 2x que confiere resistencia a oxacilina y no a penicilina. Se debe informar sensible a penicilina.

Los antibióticos β -lactámicos más activos frente a los aislamientos de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina (SPRP) son: cefotaxima o ceftriaxona, meropenem, imipenem y cefpiroma. Mientras que oxacilina, cefixima, cefaclor, ceftizoxima, ceftoxitina y ceftacidima presentan muy pobre actividad.

Penicilina

La resistencia a penicilina en *S. pneumoniae* tiene impacto clínico en la meningitis y en la otitis, mientras que es poco significativa en la neumonía y sinusitis. Esto se relaciona con la concentración de penicilina que se alcanza en el sitio de infección y con la máxima actividad bactericida de penicilina, y otros β -lactámicos, que se logra cuando la concentración de antibiótico es mayor que la CIM por lo menos durante el 40 - 50% del intervalo entre dosis.

Por otra parte, la documentación clínica de fracaso con penicilina en la neumonía solamente se observa cuando la cepa aislada presenta CIM ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$. Estos datos avalan la necesidad de establecer criterios clínicos de puntos de corte (6, 18, 26, 31, 53).

Los criterios clínicos de punto de corte para penicilina varían según la localización de la infección. Comentaremos a continuación los fundamentos de los mismos teniendo en cuenta la farmacocinética de la penicilina y la respuesta clínica al tratamiento:

Meningitis: Como la concentración que alcanza la penicilina en el LCR es muy inferior a la concentración

Cuadro 7: Antimicrobianos sugeridos para ensayar e informar en *Streptococcus pneumoniae*

Antibiótico	Ensayar	Informar		
		Meningitis ⁽¹⁾	Neumonía	Otitis
Oxacilina	X	PEN, CRO/CTX, MER (CIM)	PEN (CIM)	AMX/PEN (CIM)
Eritromicina	X		X	X
Clindamicina	X		X	X
Cotrimoxazol	X		X	X
Tetraciclina	X		X	
Rifampicina	X	X		
Ofloxacina	X		X	
Vancomicina	X	X		

PEN: penicilina, CRO: ceftriaxona, CTX: cefotaxima, AMX: amoxicilina, MER: meropenem

⁽¹⁾ Frente al aislamiento de *S. pneumoniae* a partir de LCR, sangre y líquidos de derrame deberá realizarse CIM a penicilina y ceftriaxona o cefotaxima simultáneamente. En pacientes pediátricos donde es más frecuente la resistencia a penicilina realizar CIM para meropenem.

sérica y los fracasos terapéuticos con penicilina se producen cuando la CIM es $\geq 0,125 \mu\text{g/ml}$, en la meningitis el criterio clínico de punto de corte para penicilina coincide con el criterio poblacional (6, 18, 31) (Cuadro 8).

Neumonía: En el pulmón la penicilina alcanza concentraciones semejantes a las concentraciones séricas. Por otra parte, existen suficientes evidencias clínicas que demuestran que la respuesta al tratamiento con penicilina es eficaz cuando se aíslan cepas con sensibilidad intermedia (CIM = 0,125 - 1 $\mu\text{g/ml}$). En aislamientos con CIM entre 2 y 4 $\mu\text{g/ml}$ es más contradictorio ya que en estos casos se observaron mayores porcentajes de complicaciones y mortalidad. Por las razones expuestas el criterio clínico de punto de corte para penicilina en la neumonía no coincide con el criterio poblacional (26) (Cuadro 8).

Otitis media: En el fluido de oído medio las concentraciones de penicilina son inferiores a las concentraciones séricas, por lo que se recomienda utilizar los mismos puntos de corte utilizados para meningitis

Amoxicilina y amoxicilina/sulbactam

La amoxicilina presenta ventajas farmacocinéticas con respecto a la penicilina en las localizaciones no meníngeas. Por otra parte, existen suficientes evidencias clínicas de la eficacia de amoxicilina, tanto en la otitis como en la neumonía, cuando la cepa aislada presenta CIM $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ (3, 4, 12, 26, 53, 54).

Frente al aislamiento de una cepa de *S. pneumoniae* con CIM de penicilina $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, puede considerarse que la CIM de amoxicilina y amoxicilina/clavulánico será ≤ 2 y 2/1 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente (1).

Cuando la cepa es sensible a amoxicilina podrá utilizarse este antimicrobiano en la dosis habitual y por vía oral en las infecciones no meníngeas (3, 4).

Cuadro 8: Criterios de punto de corte para penicilina y *Streptococcus pneumoniae*

	CIM ($\mu\text{g/ml}$)		
	S	I	R
Poblacional	$\leq 0,06$	0,125 - 1	≥ 2
Meningitis / otitis	$\leq 0,06$	0,125 - 1	≥ 2
Neumonía	≤ 1	2	≥ 4

S: sensible, I: intermedio, R: resistente

Cefotaxima / Ceftriaxona

A partir del año 2002, el NCCLS establece puntos de corte para las cefalosporinas de 3ª generación teniendo en cuenta la localización de la infección. Estos cambios se basan en datos farmacodinámicos y clínicos que demostraron la eficacia terapéutica de estas drogas en las infecciones no meníngeas debido a *S. pneumoniae* con CIM de cefotaxima o ceftriaxona $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ (54) (Cuadros 9 y 10).

2. Resistencia a macrólidos y lincosamidas

La sensibilidad o resistencia a claritromicina y azitromicina pueden predecirse con eritromicina. La caracterización fenotípica de la resistencia a macrólidos puede evidenciarse a través de la utilización del doble disco de eritromicina y clindamicina como en los EBH. Los fenotipos encontrados hasta el presente son los iMLSb, cMLSb y M. Estudios realizados en nuestro medio demuestran que el fenotipo M es el más frecuente (1, 9).

3. Resistencia a tetraciclinas

La sensibilidad "in vitro" a tetraciclina predice sensibilidad a doxiciclina y minociclina, mientras que la resis-

Cuadro 9: Puntos de corte de antibióticos β -lactámicos utilizados en las infecciones meningéas por *Streptococcus pneumoniae*

Antibiótico	CIM ($\mu\text{g/ml}$)		
	Sensible	Intermedio	Resistente
Penicilina	$\leq 0,06$	0,125-1	≥ 2
Cefotaxima/ ceftriaxona	$\leq 0,5$	1	≥ 2
Meropenem	$\leq 0,25$	0.5	≥ 1

Cuadro 10: Puntos de corte de antibióticos β -lactámicos utilizados en las infecciones no meningéas por *Streptococcus pneumoniae*

Antibiótico	CIM ($\mu\text{g/ml}$)		
	Sensible	Intermedio	Resistente
Penicilina	≤ 1	2	≥ 4
Cefotaxima/ ceftriaxona	≤ 1	2	≥ 4
Amoxicilina	≤ 2	4	≥ 8
Amoxicilina/ Acido Clavulámico	$\leq 2/1$	4/2	$\geq 8/4$
Cefuroxima acetil (VO)	≤ 1	2	≥ 4
Cefaclor	≤ 1	2	≥ 4

VO: vía oral

cia no puede extrapolarse a estos derivados. Por otra parte, el NCCLS establece puntos de corte solamente para tetraciclina (1).

4. Resistencia a fluorquinolonas

La ofloxacina se utiliza "in vitro" para detectar con mayor sensibilidad la resistencia a las fluorquinolonas. Las disponibles en nuestro país con mayor actividad "in vitro" e "in vivo" son: moxifloxacina > gatifloxacina > levofloxacina > ofloxacina (1, 11, 14, 48, 49).

Para evitar la emergencia de neumococos resistentes a quinolonas, las nuevas fluorquinolonas deberán considerarse como drogas de reserva cuando la situación lo amerite; pacientes alérgicos a la penicilina, fallas de tratamientos empíricos iniciales, documentación de SPRP con CIM de penicilina $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ (26).

BIBLIOGRAFÍA

- Avellaneda B, Juárez J, de Mier C, Rodríguez H, Lasala MB, Foccoli M, et al Sensibilidad antibiótica en neumococos resistentes y sensibles a penicilina. Presentado en el 29º Congreso Argentino de Medicina Respiratoria. Nov. 2001, Bs. As. PO 072.
- Bantar C, Famiglietti A, Goldberg M, Radice M, Subcomisión de Antimicrobianos de SADEBAC - AAM. (2000) Sistema informático de resistencia. Análisis de los cortes de prevalencia del año 1999. Boletín AAM 144; 11-13.
- Bantar C, Nicola F, Fernández Caniglia L, Arenoso HJ, Soutric J, Montoto M, et al. (2000) A pharmacodynamic model to support a 12 hour dosing interval for amoxicillin / sulbactam a novel oral combination in the treatment of community acquired lower respiratory tract infections. J. Chemother. 12: 223-227.
- Bantar C, Nicola F, Fernández Caniglia L, Arenoso HJ, Soutric J, Montoto M, et al. (2001) Rationale for treating community acquired lower respiratory tract infections with amoxicillin/sulbactam combination through pharmacodynamic analysis in the setting of ampicillin - resistant organisms. J. Antimicrobial Chemother. 13: 402-406.
- Betriú CM, Gómez A, Sánchez A, Cruceyra J, Romero, JJ Picazo (1994) Antibiotic resistance and penicillin tolerance in clinical isolates of group B streptococci. Antimicrob. Agents Chemother. 38: 2183-2186.
- Bishai W (2002) The *in vivo-in vitro* paradox in pneumococcal respiratory tract infections. J. Antimicrobial Chemother. 49: 433-436.
- Bourgault AM, Wilson WR, Washington JA II (1979) Antimicrobial susceptibility of species of viridans streptococci. J. Infect. Dis. 140: 316-321.
- Carratalá J, Alcaide F, Fernández-Sevilla A, Corbella X, Linares J, Gudiol F (1995) Bacteremia due to viridans streptococci that are highly resistant to penicillin: increase among neutropenic patients with cancer. Clin. Infect. Dis. 20: 1169-1173.
- Casellas JM, Visser M, Mac Dougall N, Coco B, Tome G, Gliosca L y Grupo colaborativo de telitromicina del Cono Sur (2001) Estudio multicéntrico en el Cono Sur Americano de la actividad comparativa *in vitro* de telitromicina en cepas con fenotipos definidos de resistencia asociada a infección respiratoria adquirida en la comunidad. Rev. Esp. Quimioterap. 14: 269-274.
- Casellas J.M, Bantar C, Couto E, Famiglietti A, Goldberg M, Quinteros M, et al (1993) Recomendaciones para la determinación de meticilino-resistencia en *Staphylococcus aureus*. Boletín AAM 103: 5.
- Casellas JM, Farinati AE, Tome G, et al. (1998) Activity of new fluoroquinolones against respiratory tract pathogens. ICID, Abstract 363, Boston.
- Casellas JM, Arenosa HJ, Soutric JC, Tome G, Goldberg M (1993) Estudio comparativo *in vivo* e *in vitro* de tres asociaciones de inhibidores suicidas de B-lactamasas con aminopenicilinas Rev. Esp. Quimioterap. 6: 289-297.
- Center for Disease Control and Prevention. (2002) *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin —. United States. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 51: 565-567.
- Chen DK, McGeer A, C de Azavedo J, Low D (1999) Decreased susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to fluoroquinolones in Canada. New Engl. J. Med. 341: 233-239.
- Chow JW, Shaes DM (1999) *Enterococcus* spp. In Yu, V.L., Merigan, T.C., Barriores, S.L. (ed): Antimicrobial therapy and vaccines, Williams and Wilkins, Baltimore, MD p. 177-185.
- Collins MD, Lawson PA (2000) The genus Abiotrophia (Kawamura et al) is not monophyletic: proposal of *Granulicatella* gen. nov. *Granulicatella adiacens* comb. nov., *Granulicatella elegans* comb. Nov., and *Granulicatella alaeopterae* comb.nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 365-369.
- Corso A, Gagetti M, Rodriguez R, Melano P, Ceriana D, Faccione P, et al (2001) Molecular characterization of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* (VREfm) from 30 hospitals in Argentina, 41th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, C 2-509, p 125, Chicago, USA.

18. Dagan R, Klugman K, Craig WA, Baquero F (2001) Evidence to support the rationale that bacterial eradication in respiratory tract infection is an important aim of anti-microbial therapy. *J. Antimicrobial Chemother.* 47: 129-140.
19. Doern GV, Ferraro MJ, Brueggemann AB, Ruoff KL (1996) Emergence of high rates of antimicrobial resistance among viridans group streptococci in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40: 891-894.
20. Douglas CP, Siarakas S, Gottlieb T (1994) Evaluation of Etest as a rapid method for determining MICs for nutritionally variant streptococci. *J. Clin. Microbiol.* 32: 2318-2320.
21. Facklam R, Sahn DF, Martins Teixeira L (1999) *Enterococcus*. En: Murray, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover F, Tenover RH (Ed). *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. ASM Press, Washington DC, p. 297-305.
22. Famiglietti A, de Mier C, Rodríguez H, Almuzara M, Rodrigo M, Juárez J *et al* (2000). Emergence of erythromycin-resistance in beta-hemolytic streptococci isolated in Buenos Aires and its metropolitan area. 9th International Congress of Infectious Diseases. Resúmen, p. 88. Buenos Aires, Argentina.
23. Farber BF, Eliopoulos GM, Ward JI, Ruoff KL, Syriopoulou V, Moellering RC Jr. (1983) Multiply resistant viridans streptococci: susceptibility to β -lactam antibiotics and comparison of penicillin-binding proteins. *Antimicrob Agents Chemother.* 24: 702-705.
24. Gephart JF, Washington JA II (1982) Antimicrobial susceptibilities of nutritionally variant streptococci. *J. Infect. Dis.* 146: 536-539.
25. Graham JC, Gould FK (2002) Role of aminoglycoside in the treatment of bacterial endocarditis. *J. Antimicrobial Chemother.* 49: 437-444.
26. Heffelfinger J, Dowell SF, Jorgensen JH, Klugman KP, Mabry LR, Musher, DM, and Drug-Resistant *Streptococcus pneumoniae* therapeutic working group (2002) Management of community - acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance. *Arch. Intern. Med.* 60: 1399-1408.
27. Hussain Z, Stoakes L, Garrow S, Longo S, Fitzgerald V, Lannigan R (2000) Rapid detection of *mecA*-positive and *mecA*-negative coagulase-negative staphylococci by anti-penicillin binding protein 2^a slide latex agglutination test. *J. Clin. Microbiol.* 38: 2051-2054.
28. Hussain Z, Stoakes L, Massey V, Diagre D, Fitzgerald V, El Sayed S, *et al* (2000) Correlation of oxacillin MIC with *mecA* gene carriage in coagulase-negative Staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 38: 752-754.
29. Isaacs D, Wilkinson R (1987) Antibiotic use in the neonatal unit. *Arch. Dis. Child.* 62: 204-208.
30. Kanamoto T, Sato S, Inoue M (2000) Genetic heterogeneities and phenotypic characteristics of strains of the genus *Abiotrophia* and proposal of *Abiotrophia para-adiacens* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.* 38: 492-498.
31. Kaplan SH, Mason E (Jr.) (1998) Management of Infections due to antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Clin. Microbiol. Rev.* 11: 628-644.
32. König A, Reinert RR, Hakenbeck R (1998) *Streptococcus mitis* with unusually high level resistance to β -lactam antibiotics. *Microb Drug Resist.* 4: 45-49.
33. Leclercq R, Courvalin P (1991) Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35: 1267-1272.
34. Lopardo H, Bantar C, Venuta ME *et al* (1995) Detection of high and moderately high-level resistance to gentamicin and streptomycin in *Enterococcus faecium* by a disk diffusion method. *J. Antimicrob. Chemother.* 36: 237-240.
35. Lopardo H, Casimir L, Hernández C, Ruboglio E (1990) Isolation of three strains of beta-lactamase-producing *Enterococcus faecalis* in Argentina. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 9: 402-405.
36. Lopardo H, Fernández N, Casimir L, Ruboglio E (1991) Ampicillin-resistant enterococci. Our experience of one year in a pediatric hospital in Argentina. *J. Chemother. Suppl.* 4: 125-126.
37. Lopardo H, Vidal P, Sparo M, Pagniez N, Facklam RR, Beall B. and the Argentinian Streptococcus Study Group. (2001) A six month multicenter study on invasive infections due to beta-hemolytic streptococci; part II: group A, C and G streptococci. 101nd. ASM General Meeting, Resúmen C-261, Orlando, EEUU.
38. Lopardo HA, Venuta ME, Vidal P, Rosaenz L, Corthey C, Farinati A *et al* (1997) Argentinian collaborative study on prevalence of erythromycin and penicillin susceptibility in *Streptococcus pyogenes*. *Diagn Microbiol. Infect. Dis.* 28: 29-32.
39. Louie L, Majury A, Goodfellow J, Louie M, Simor AE (2001) Evaluation of a latex agglutination test (MRSA-screen) for detection of oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 39: 4149-4151.
40. Malbruny B, Nagai K, Coquemont M, Bozdogan B, Tambic-Andrasevic, A, Hupkova, *et al* (2002) Resistance to macrolides in clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* due to ribosomal mutations. *J. Antimicrobial Chemother.* 49: 935-939.
41. Miranda G, Corso A, Melano R, Arismendi P, Rodríguez M, Garbervetsky L (2002) First isolates of *Enterococcus faecium* VanB in Argentina: Two cases report. 102nd. ASM General Meeting, C 299, p. 153, Salt Lake City, Utah.
42. Murray B, Lopardo H, Ruboglio E, Frosolono M, Singh K. (1992) Intrahospital spread of a single gentamicin-resistant beta-lactamase-producing strain of *Enterococcus faecalis* in Argentina. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36: 230-232.
43. Murray B, Singh KV, Markowitz S, Lopardo H, Patterson JE, Zervos MJ, *et al* (1991) Evidence for clonal spread of a single strain of beta-lactamase-producing *Enterococcus (Streptococcus)- faecalis* to six hospitals in five states. *J. Infect. Dis.* 163: 780-785.
44. Murray CK, Walter EA, Crawford S, Mcelmeel ML, Jorgensen JH (2001) *Abiotrophia* bacteremia in a patient with neutropenic fever and antimicrobial susceptibility testing of *Abiotrophia* isolates. *Clin. Infect. Dis.* 32: e140-e142.
45. National Committee for Clinical Laboratory Standards (2000) *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically-Fifth Edition: Approved Standard M7-A5*. NCCLS, Wayne, PA.
46. National Committee for Clinical Laboratory Standards (2000) *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests - Seventh Edition: Approved standard M2-A7*. NCCLS, Villanova, PA.
47. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2002). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twelfth Informational supplement. NCCLS document M100-S12*. NCCLS, Villanova, PA.
48. Pankuch GA, Bozdogan B, Nagai K, Tambic-Andrasevic A, Schoenwald S, Tambic T, *et al* (2002) Incidence, epidemiology, and characteristics of quinolone-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* in Croatia. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 2671-2675.
49. Pérez-Trallero E, García-Rey C, Martín-Sánchez AM, Aguilar L, García de Lomas J, Ruiz J, the Spanish surveillance group for respiratory pathogens (SAUCE Program) (2002) Activities of six different quinolones against clinical respiratory isolates of *Streptococcus pneumoniae* with reduced susceptibility to ciprofloxacin in Spain. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46: 2665-2667.
50. Predari SC, Gutierrez MA, Ribas C, Molinari GS, Santolanni JE (1991) Susceptibility of *Enterococcus faecalis* to twelve antibiotics; time - kill assays, and high -level aminoglycoside resistance in a University Hospital in Argenti-

- na. Rev. Arg. Microbiol. 23: 67-78.
51. Rice L, Bonano R (1996) Genetic and biochemical mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. In: Lorian V (Ed), Antibiotic in laboratory medicine, 4th ed. Williams and Wilkins, Baltimore MD, p. 453-501.
 52. Ruiz MP, Soriano F (1994) Actividad inhibitoria y bactericida de siete antibióticos frente a *Streptococcus* grupo *viridans* aislados de hemocultivos. Rev. Esp. Quimioterap. 7: 302-308.
 53. Ruvinsky RO, Campuzano de Rolón A, Mansilla E (2000) Infecciones de vías aéreas superiores: otitis media aguda. Rev. Enf. Infecc. Ped. 4: 56-61.
 54. Sahm DF, Thornsberry C, Mayfield DC, Jones ME, Karlowsky JA (2002) *In vitro* activities of broad-spectrum cephalosporins against nonmeningeal isolates of *Streptococcus pneumoniae*: MIC interpretation using NCCLS M100-S12 recommendations. J. Clin. Microbiol. 40: 669-674.
 55. Subcomisión de Antimicrobianos de SADEBAC, AAM y grupo SIR (2002) Sistema Informático de Resistencia: Análisis de prevalencia del año 2000. Boletín AAM 153: 5-8.
 56. Seppälä H, A Nissinen, Q Yu, P Huovinen (1993) Three different phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Finland. J. Antimicrob. Chemother. 32: 885-891.
 57. Soriano SV, Brasili S, Saiz M, Carranza C, Vidal P, Calderón J, et al (2000) *Streptococcus pyogenes*: sensibilidad a penicilina y eritromicina en las ciudades de Neuquén y Cipolletti. Medicina (Buenos Aires) 60: 487-490.
 58. Srinivasan A, Dick J, Perl TM (2002) Vancomycin resistance in Staphylococci. Clin. Microbiol. Rev. 15: 430-438.
 59. Stein DS, Libertin CR (1988) Time kill curve analysis of vancomycin and rifampin alone and in combination against nine strains of nutritionally deficient streptococci. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 10: 139-144.
 60. Swenson JM, Hindler JA, Petersen LR (1999) Special phenotypic methods for detecting antimicrobial resistance. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover F, Tenover FC (Ed), Manual of clinical microbiology. 7th ed. ASM Press, Washington DC, p. 1563-1577.
 61. Swenson JM, Spargo J, Tenover FC, Ferraro MJ (2001) Optimal inoculation methods and quality control for the NCCLS oxacillin agar screen test for detection of oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 39: 3781-3784.
 62. Swenson JM, Williams P, Killgore G, O'Hara C, Tenover F (2001) Performance of eight methods, including two new rapid methods, for detection of oxacillin resistance in a challenge set of *Staphylococcus aureus* organisms. J. Clin. Microbiol. 39: 3785-3788.
 63. Tenover F (2000) VIRSA, VISA, and GISA: the dilemma behind the name game. Clin. Microbiol. Newsletter. 22: 49.
 64. Tenover F, Biddle JW, Lancaster MV (2001) Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. Emerg. Infect. Dis. 7: 327-332.
 65. Tenover F, Jones R, Swenson J, Zimmer B, McAllister S, Jorgensen JH (1999) Methods for improved detection of oxacillin resistance in coagulase-negative staphylococci: results of a multicenter study. J. Clin. Microbiol. 37: 4051-4058.
 66. Traub WH, Leonhard B. (1997) Comparative susceptibility of clinical group A, B, C, F, and G β -hemolytic streptococcal isolates to 24 antimicrobial drugs. Chemother. 43: 10-20.
 67. Villar H, Jugo M, Farinati A (1994). Eficacia de gentamicina en combinación con antibióticos beta-lactámicos frente a *Streptococcus agalactiae* tolerantes y no tolerantes a penicilina. Enferm. Infecc. Microbiol. Clín. 12: 385-389.
 68. Yamazumi T, Furuta I, Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN (2001) Comparison of the vitek gram-positive susceptibility 106 card, the MRSA screen latex agglutination test, and mecA analysis for detecting oxacillin resistance in a geographically diverse collection of clinical isolates of coagulase - negative staphylococci. J. Clin. Microbiol. 39: 3633-3636.
 69. Zhinden R, Rotzler M, Ritzler E, Berger-Bachi B (2001) Detection of penicillin-binding protein 2a by rapid slide latex agglutination test in coagulase-negative staphylococci. J. Clin. Microbiol. 39: 412.