



Protocolo Red Whonet – Año 2020

Sistemas automatizados

Recomendación general para Phoenix y Vitek 2

Se debe confirmar:

- La tipificación cuando la misma no coincide con el perfil de sensibilidad hallado.
- Las resistencias de baja frecuencia
- Las discordancias entre los valores de CIM y los mecanismos de R que marque el experto



Detección de BLEE

Vitek 2 y Phoenix

Debemos confirmar BLEE en aquellas cepas que presenten CIM de cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima y cefepime $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ y el equipo marque BLEE (+). En esos casos puede ser que la cepa posea una BLEE que confiere bajo nivel de resistencia o que se trate de un falso positivo. Los falsos positivos se pueden deber a: hiperproducción de SHV-1, hiperproducción de AmpC, contaminación con bacterias gram positivas o problemas del lector óptico. La confirmación se puede realizar con el método de doble disco en agar Mueller Hinton.

Phoenix

Presenta buena detección de BLEE en *E. coli*, *Klebsiella* spp y *P. mirabilis*. En las enterobacterias productoras de AmpC que presenten no sensibilidad a ceftazidima, ceftriaxona y/o cefepime debería realizarse el screening de BLEE por difusión para diferenciar BLEE de AmpC derreprimida/hiperexpresión AmpC.

Los paneles NMIC-406 (sistémico) y 407 (urinario) poseen cefoxitina para sospechar la presencia de AmpC plasmídica. Confirmar este mecanismo, en enterobacterias no productoras de AmpC, mediante inhibición con ácido borónico.

Se debe sospechar BLEE de tipo cefepimasa ante aislamientos con resistencia a cefepime y sensibilidad a ceftriaxona y ceftazidima. Este mecanismo se puede confirmar probando cefotaxima y cefepime por difusión (Δ halo ≥ 4 mm).

Vitek 2

Presenta buena detección en *E. coli* y *Klebsiella* spp. En el resto de las enterobacterias se mejora la detección cambiando la tipificación en forma temporaria a *K. pneumoniae* para poder obtener el resultado del test confirmatorio.



Solo la tarjeta AST-N369 (resistencia extrema) posee cefoxitina que es el antibiótico que nos permite sospechar la presencia de AmpC plasmídica. Confirmar este mecanismo, en enterobacterias no productoras de AmpC, mediante inhibición con ácido borónico.

Se debe sospechar BLEE de tipo cefepimasa ante aislamiento con resistencia a cefepime y sensibilidad a ceftriaxona y ceftazidima. Este mecanismo se puede confirmar probando cefotaxima y cefepime por difusión (Δ halo ≥ 4 mm).

Colistín

Vitek 2 y Phoenix

En el año 2017 se publicaron numerosos trabajos comparando los métodos automatizados y E-test con el método de referencia para colistín que es la CIM por microdilución en caldo Mueller Hinton ajustado en cationes. Dichos trabajos demuestran que tanto Vitek 2 como Phoenix no se ajustan a las recomendaciones del CLSI en términos de EVM (errores muy mayores o falsos sensibles) dado que ambos métodos presentan más de 1,5 % de estos errores. Los EM (errores mayores o falsos resistentes) se encuentran dentro de lo aceptado por el CLSI ($\leq 3\%$). Por lo tanto, en aquellas enterobacterias en las que el colistín va a ser utilizado como tratamiento (enterobacterias productoras de carbapenemasas) debemos confirmar los resultados categorizados como sensibles mediante alguno de los métodos recomendados por el LNR (CIM por dilución en caldo, predifusión, colistín spot, colistín drop). Las cepas que presenten resistencia a colistín por los métodos automatizados pueden ser informadas sin confirmación alguna.

A pesar de que los métodos automatizados no presentan errores mayores, en el caso particular de PAE donde la R a COL es muy poco frecuente se deberían confirmar los COL R ya que la mayoría de las veces se debe a contaminaciones.

Carbapenemasas

Hasta el momento las tarjetas y paneles disponibles de Vitek 2 y Phoenix no poseen test confirmatorios de la presencia de carbapenemasas. Por lo tanto, se deberían realizar los tests confirmatorios para detección de carbapenemasas en aquellas cepas que presenten no sensibilidad a algún carbapenem con excepción de la tribu Proteae e imipenem.

Ver criterios del LNR para sospecha de carbapenemasas con ambos equipos.

Phoenix

Los paneles NMIC-406 (sistémico) y NMIC-407 (urinario) poseen ertapenem, meropenem e imipenem. La concentración de meropenem en el panel sistémico llega a 32 $\mu\text{g/ml}$ lo que permite identificar a aquellas cepas en las que se puede utilizar el



tratamiento combinado en infusión prolongada y altas dosis. Con respecto a piperacilina tazobactam la concentración llega a 64 µg/ml y no a 128 µg/ml que es la concentración que nos permite sospechar, junto con ertapenem I o R, la presencia de carbapenemasa de tipo OXA 48 like. Por lo tanto, ante sospecha de carbapenemasa de tipo OXA (CIM de ERTA $\geq 0,5$ µg/ml y cefalosporinas de 3° y 4° gen R), y piperacilina tazobactam NO SENSIBLE, se puede probar piperacilina tazobactam por difusión y confirmar aquellas con PTZ ≤ 15 mm para luego **confirmar con cromatografía o PCR** o directamente confirmar todas las que den **P tazo > 64 µg/ml**.

Vitek 2

La tarjeta AST-N368 no posee ertapenem, por lo tanto, las carbapenemasas de tipo OXA 48 like de bajo nivel de resistencia (aquellas que solo afectan ertapenem y cursan con imipenem y meropenem sensibles) pueden no ser detectadas. La tarjeta de resistencia extrema, AST-N369, contiene ertapenem y, por lo tanto, este tipo de enzima podrá ser sospechado.

La tarjeta AST-N368 contiene meropenem hasta 16 µg/ml (cepas aptas para tratamiento combinado en infusión prolongada y altas dosis) y piperacilina tazobactam hasta 128 µg/ml. No es necesario probar piperacilina tazobactam por difusión.

Vitek 2 y Phoenix

AMINOGLUCOCIDOS Y CARBAPENEMASAS: en ETB productoras de carbapenemasas, se recomienda probar el disco de GEN y AKN si dan sensibles e informar el resultado que dé el disco. Esto se debe a la asociación entre las carbapenemasas y el mecanismo de resistencia a aminoglucósidos mediado por metilasas. La presencia de este último mecanismo da resistencia neta a estos ATM (CIMs mayores a 512 µg/ml y halos de 6mm) pero en algunas ocasiones puede presentar falsa sensibilidad a GEN y/o AKN en los sistemas automatizados debido a la falta de diluciones más concentradas. Cuando se prueban por difusión estos aislamientos se puede observar la presencia de una cocardita o una pátina.

Fosfomicina y tigeciclina

Se encuentran presentes solamente en el panel Phoenix NMIC-406 y en la tarjeta Vitek 2 AST-N369 (resistencia extrema). Los resultados de fosfomicina R deben ser confirmados por difusión.

Tigeciclina se encuentra en el panel Phoenix NMIC-406 y en la tarjeta Vitek 2 AST-N369 (resistencia extrema). El panel Phoenix tiende a dar resultados de tigeciclina más resistentes que el E-test y la CIM por dilución en agar (especialmente en *Klebsiella* spp y *Enterobacter* spp). Confirmar los resultados I o R del panel. **Los resultados S se pueden**



informar sin confirmación. Todavía no tenemos mucha experiencia con la tarjeta Vitek de resistencia extrema, pero **según publicaciones internacionales Vitek presenta el mismo problema que Phoenix para tigeciclina.**

Si al probar el disco TIGE resulta I, hacer CIM por otro método (lo más confiable sería hacer Sensititre, CIM en caldo, o usar las tiras de CIM marca Liofilchem).

Si se sospecha carbapenemasa probar disco de fosfomicina. **En caso de utilizar tarjeta 369 no haría falta probar el disco.**

PHOENIX y Vitek: Si FOS o TIGE I o R probar y confirmar el valor por disco. Ingresar solo el resultado del disco (borrar el resultado de CIM) si diera sensible. **Si da I por disco hacer CIM por tira de gradiente (ingresar solo el valor de la tira de gradiente y borrar la CIM por método automatizado).** LO IMPORTANTE ES QUE QUEDE UN SOLO VALOR DE CADA DROGA.

Fluorquinolonas

Vitek 2 y Phoenix

En 2019 CLSI cambió los puntos de corte de ciprofloxacina para ETB a $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$ y $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ por lo que ambos equipos automatizados tienen el rango de CIMs adecuado para informar las tres categorías (excepto para *Salmonella* sp).

En el caso de levofloxacina, Vitek 2 cubre el punto de corte. Phoenix no cubre el punto de corte S porque ensaya a partir de $1 \mu\text{g/ml}$. Por lo tanto, ante aislamientos $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ se debe probar levo por difusión si queremos categorizarlo (levo no está en el protocolo de trabajo, solo ensayar ante pedido del médico).

Infecciones urinarias no complicadas (infección urinaria ambulatoria de paciente sin patología de base)

Los usuarios de Phoenix deberían utilizar el panel NMIC-407 que contiene las concentraciones de cefazolina adecuadas para informarla como predictor de sensibilidad a las cefalosporinas orales. En el panel NMIC-406 la concentración de cefazolina llega a $8 \mu\text{g/ml}$ por lo que sólo se puede informar cefazolina sensible si da $8 \mu\text{g/ml}$ o menos. Si el resultado es $>8 \mu\text{g/ml}$ parte de esas cepas podrían tener una CIM de $16 \mu\text{g/ml}$ (sensible) y otra parte $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ (resistente), por lo que no se puede interpretar. **En estos casos se debe probar el disco de cefazolina y borrar el valor de CIM, DEJAR SOLO EL VALOR DE DISCO**

Los usuarios de Vitek 2 deberían utilizar la tarjeta AST-N368. Contiene cefalexina ($4-64 \mu\text{g/ml}$) en lugar de cefazolina. Debido a que no se cuentan con suficientes datos de correlación entre cefalexina y cefazolina se debe probar durante 2020 el disco de cefazolina para establecer una experiencia local. En el caso de que cefazolina sea R, lo más probable es que sea BLEE, si no fuera BLEE en aquellos lugares donde se utilice cefuroxima y cefixima deberían probarlo por disco para poder informarlos porque puede haber aislamientos R a cefazolina y sensibles a estos dos antimicrobianos.



Vitek 2

Tarjeta AST-N368

Cuando estudiemos una *Salmonella*, si la CIM de ciprofloxacina es $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$ debemos probar ciprofloxacina por difusión para poder categorizarla correctamente dado que las tarjetas disponibles carecen de la concentración 0,06 y 0,125 $\mu\text{g/ml}$. Probar azitromicina por difusión para *Salmonella* y *Shigella flexneri*. Probar fosfomicina. No es necesario probar cefpodoxima porque la tarjeta tiene detección de BLEE.

Algunos laboratorios optan por no utilizar las tarjetas de automatizado y realizar el antibiograma por difusión con los discos recomendados en el protocolo.

Phoenix

Panel NMIC-406

Cuando estudiemos una *Salmonella*, si la CIM de cipro es $\leq 0,125 \mu\text{g/ml}$ debemos probar ciprofloxacina por difusión para poder categorizarla correctamente dado que las tarjetas disponibles carecen de la concentración 0,06 $\mu\text{g/ml}$.

Probar azitromicina por difusión para *Salmonella* y *Shigella flexneri*. Probar nitrofurantoína solo para *Shigella*. No es necesario probar cefpodoxima porque la tarjeta tiene detección de BLEE.

Algunos laboratorios optan por no utilizar las tarjetas de automatizado y realizar el antibiograma por difusión con los discos recomendados en el protocolo.



Vitek 2 (AST-N368) y Phoenix (NMIC-406)

Si se utiliza la tarjeta AST-N368 agregar aztreonam, ceftolozane tazobactam y ceftazidima/ avibactam (solo 10/4 μg) por difusión.

Investigar mecanismos BLEE y carbapenemasas según el algoritmo de búsqueda del LNR. Todos los resultados de colistín S se deben confirmar con método confirmatorio cuando se va a informar.

Sería aconsejable confirmar los resultados de colistín R dado que es una R de baja frecuencia.



Vitek 2

Dado que se trata de una bacteria multi resistente si se utilizan ambas tarjetas, AST-N368 y AST-N369, no sería necesario agregar discos por difusión. Si se utiliza sólo la tarjeta AST-N368 se debe probar por disco minociclina y tigeciclina.

Investigar mecanismos BLEE y carbapenemasas según el algoritmo de búsqueda del LNR.



Todos los resultados de colistín S se deben confirmar con método confirmatorio cuando se va a informar.

Phoenix

Si se utiliza el panel NMIC-406 agregar minociclina.

Investigar mecanismos BLEE y carbapenemasas según el algoritmo de búsqueda del LNR. Todos los resultados de colistín S se deben confirmar con método confirmatorio cuando se va a informar.

Confirmar todas las tige I o R.



Para ambos equipos:

- Es importante confirmar las resistencias de baja frecuencia: linezolid, daptomicina, **ceftarolina**, **ceftobiprole** y vancomicina.
- Ante *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* debemos basarnos en la CIM de oxacilina para informar metilino S o R.

Vitek 2

Si se utiliza la tarjeta AST-P653 se deben probar por difusión ceftarolina, ceftobiprole y tigeciclina.

La detección de metilino resistencia es muy buena tanto para *S. aureus* como para *Staphylococcus coagulasa* negativos (SCN), siempre trabajando con AES (Advanced Expert System) activado.

Este panel contiene test de inducción.

Phoenix

Si se utiliza el panel PMIC-89 se debe probar ceftobiprole por difusión.

Este panel contiene test de inducción.

Probar por difusión los resultados I de eritromicina.

La detección de metilino resistencia es muy buena para *S. aureus* **pero presenta falsa resistencia en algunas especies de SCN**. Para disminuir esos errores mayores (en negrita en la tabla) se recomienda probar el disco de cefoxitina ante las siguientes situaciones:

Especie	CIM Oxacilina (µg/ml)	CIM Cefoxitina (µg/ml)
<i>S. epidermidis, hominis</i> y <i>haemolyticus</i>	≤0,25	≥8
	0,5	≤4
Resto de los SCN	≤0,25	≥8
	0,5-2	≤4

El resto de las situaciones de la tabla que no están en negrita son errores muy mayores de la CIM de oxacilina, son de muy baja frecuencia, pero también deberían confirmarse con disco de FOX.

Nota para Phoenix: si tienen que hacer media placa para probar BPR se podría poner un disco de cefoxitina en SCN para no perder otro día en el informe si cayera en alguna de las situaciones de la tabla.



Para ambos equipos: confirmar las resistencias de baja frecuencia: linezolid y daptomicina.

Vitek 2

Ante enterococos resistentes a vancomicina agregar tigeclina por difusión.

Phoenix

Utilizando el panel PMIC-89 ante enterococos resistentes a vancomicina el equipo interpreta el resultado de tigeclina solo para *E. faecalis*. Cuando se aísla *E. faecium* resistente a vancomicina podemos cambiar temporariamente la tipificación a *E. faecalis* para ver la CIM de tigeclina y luego cargar este valor como E-test.



Los usuarios de sistemas automatizados no es necesario que prueben ceftarolina por disco.

Phoenix

Utilizando el panel SMIC-101 se deberían probar rifampicina por difusión.

Realizar D-test ante resultados de eritromicina I o R (el panel no contiene test de inducción).

Vitek 2

Utilizando la tarjeta AST-ST03 no es necesario agregar discos ni hacer D-test (contiene test de inducción). En el caso de estar usando la tarjeta anterior, es necesario hacer el D-test por difusión.

Ambos equipos presentan entre 10-20 % de errores minor para ATB β -lactámicos, especialmente penicilina. Sería aconsejable confirmar la CIM de penicilina por E-test o CIM en caldo en *S. pneumoniae* aislados de meningitis.



Vitek 2

Utilizando la tarjeta AST-ST03 no es necesario agregar discos. Esta tarjeta contiene el test de inducción.

Los *Streptococcus agalactiae* también se pueden ensayar con la tarjeta AST-P653. Esta tarjeta contiene test de inducción pero solo se aplica a los *Staphylococcus*. Sin embargo, cuando estamos estudiando un *Streptococcus agalactiae*, si cambiamos

temporariamente la identificación a *Staphylococcus* podemos ver el resultado del test de inducción. Esta metodología, implementada por Soloaga y col, tiene un 100 % de correlación con el D-test.

Phoenix

Utilizando el panel SMIC-101 solo es necesario realizar D-test ante resultados de eritromicina I o R (el panel no contiene test de inducción).