

Pruebas de susceptibilidad. (Antibiograma)

Dra. Ana Carolina González Romero.
Magister Scientiae en Microbiología Clínica.
Ph.D En Ciencias Médicas Fundamentales.

Definición y clasificación

Antibióticos



**Sustancias
químicas**

**microorganismos
(bacterias, hongos)**

**inhiben el
crecimiento
bacteriano**

**produciendo
su destrucción.**

1. Efecto antimicrobiano

Bacteriostático

Bactericida

Definición y clasificación

Antibióticos

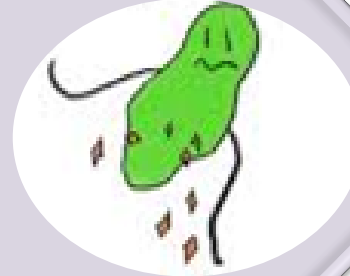
1. Efecto antimicrobiano

Bacteriostático

Bactericida

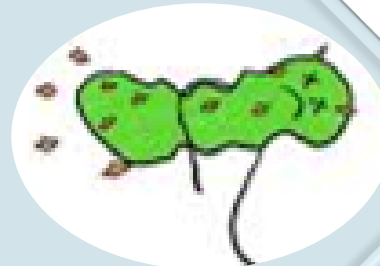
Bacteriostático

- Tetraciclina
- Macrólidos
- Lincosaminas
- Cloranfenicol



Bactericidas

- B-lactámicos
- Glucopéptidos
- Aminoglucósidos
- Rifampicinas
- Polipéptidos
- Trimetoprin



clasificación

Antibióticos

1. Efecto antimicrobiano

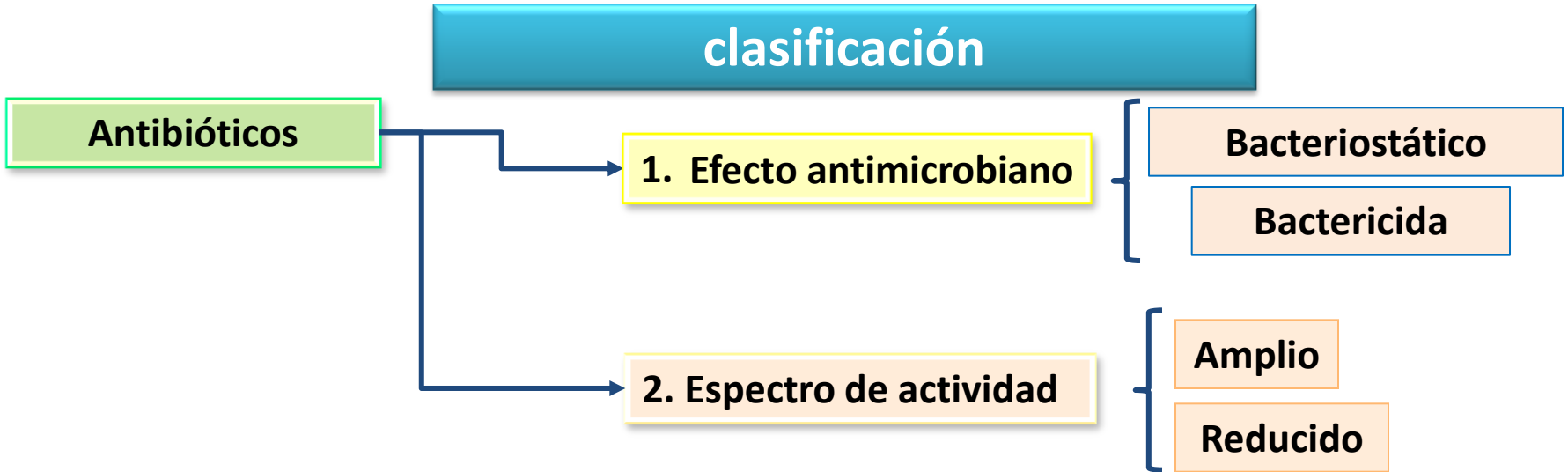
Bacteriostático

Bactericida

2. Espectro de actividad

Amplio

Reducido



clasificación

Antibióticos

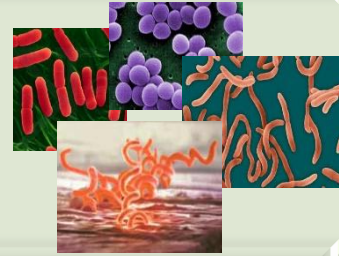
2. Espectro de actividad

Amplio

Reducido

Amplio

- Carbapenemos
- Aminoglucósidos
- Trimetoprim



Reducido

- Oxacilina
- Linezolid
- Glucopéptidos
- Macrólidos
- Lincosaminas



- Polipéptido
- Piperacilina/tazobactam



clasificación

Antibióticos

1. Efecto antimicrobiano

Bacteriostático

Bactericida

2. Espectro de actividad

Amplio

Reducido

3. Estructura química

B-lactámicos

Glucopéptidos

Polimixinas

Aminoglucósidos

Tetraciclinas

Fenicoles

Macrólidos

Lincosaminas

Streptograminas

Ketolidos

Oxazolidonas

Rifamicinas

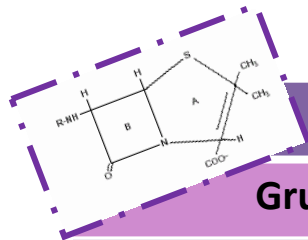
Quinolonas

Nitrofuranos

Sulfamidas

Diaminopirimidinas

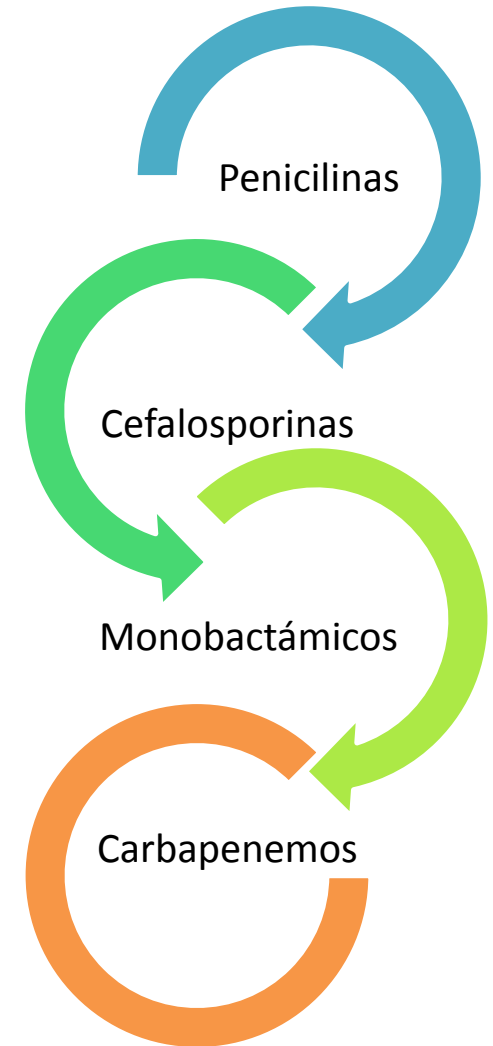
3. Estructura química



PENICILINAS

Grupo	Agente
Penicilinas naturales	Penicilina G Penicilina V
Aminopenicilinas	Ampicilinas Amoxicilina
Penicilinas resistentes a β -lactamasas	Oxacilina Meticilina
Carboxipenicilinas	Carbenicilina Ticarcilina
Ureidopenicilinas	Piperacilina

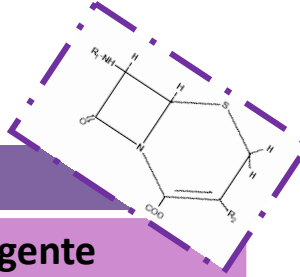
B-lactámicos



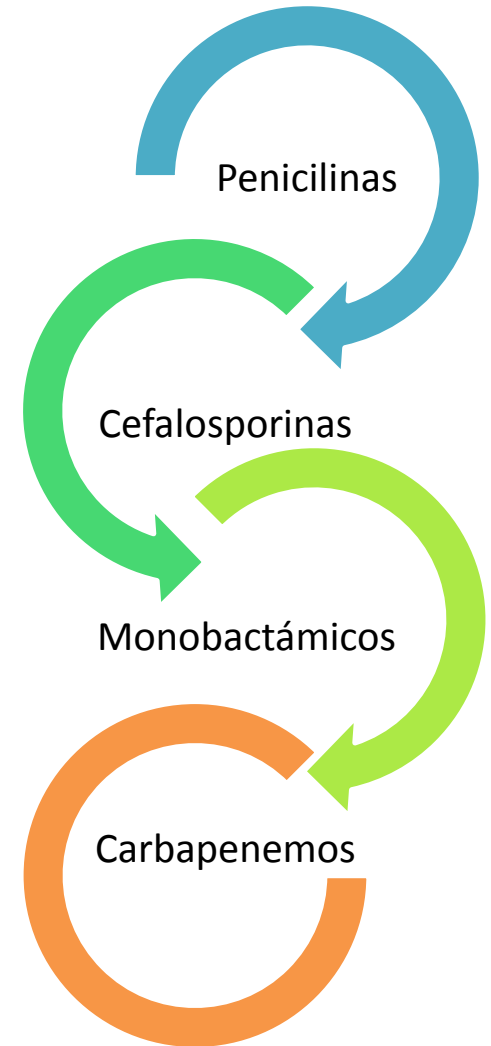
3. Estructura química

CEFALOSPORINAS

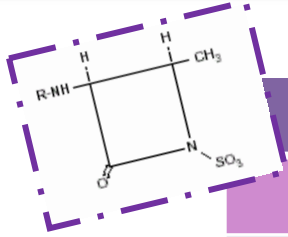
Grupo	Agente
Cefalosporinas de 1 ^{ra} generación (C1G)	Cefalotina Cefazolina Cafadroxilo Cefalexima
Cefalosporinas de 2 ^{da} generación (C2G)	Cefuroxima Cefaclor Cefamandol Cefoxitin } Cefamicinas Cefotetan }
Cefalosporinas de 3 ^{ra} generación (C3G)	Cefotaxima Ceftriaxona Ceftazidima Ceftibutem Cefixima
Cefalosporinas de 4 ^{ta} generación (C4G)	Cefepima Cefpirome



B-lactámicos



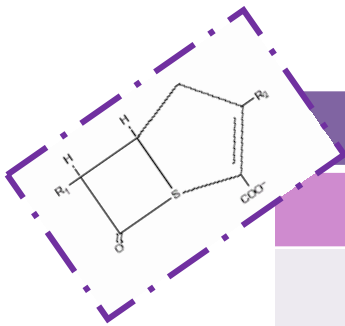
3. Estructura química



MONOBACTÁMICOS

Agente

Aztreonam



CARBAPENEMOS

Agente

Imipenem
Meropenem
Ertapenem
Doripenem

Inhibidores de β -lactamasas

Agente

Ácido clavulánico
Sulbactam
Tazobactam

Combinado

Amoxicilina/Ácido clavulánico
Ampicilina/Sulbactam
Piperacilina/Tazobactam

B-lactámicos

Penicilinas

Cefalosporinas

Monobactámicos

Carbapenemos

clasificación

Antibióticos

1. Efecto antimicrobiano

Bacteriostático

Bactericida

2. Espectro de actividad

Amplio

Reducido

3. Estructura química

B-lactámicos

Glucopéptidos

Polimixinas

Aminoglucósidos

Tetraciclinas

Fenicoles

Macrólidos

Lincosaminas

Streptograminas

Ketolidos

Oxazolidonas

Rifamicinas

Quinolonas

Nitrofuranos

Sulfamidas

Diaminopirimidinas

3. Estructura química

GLUCOPÉPTIDOS

Vancomicina
Teicoplanina

POLIPÉPTIDOS O POLIMIXINAS

Colistin
Polimixina B
Bacitracina

AMINOGLUCÓSIDOS

Gentamicina
Amikacina
Tobramicina
Netilmicina
Estrptomicina

TETRACICLINAS

Tetraciclina
Doxiciclina
Glicilciclina (tigeciclina)

ANFENICOLES

Cloranfenicol
Tianfenicol

MACRÓLIDOS

Eritromicina
Azitromicina
Claritromicina

LINCOSAMINAS

Clindamicina

OXAZOLIDONAS

Linezolid

RIFAMPICINAS

Rifampicina

QUINOLONAS

Grupo

Agente

Quinolonas de
1^{ra} generación

Ácido nalidixico

Quinolonas de
2^{da} generación

Ciprofloxacina
Ofloxacina
Norfloxacina
Lomefloxacina

Quinolonas de
3^{ra} generación

Levofloxacina

Quinolonas de
4^{ta} generación

Moxifloxacina
Gemifloxacina

DIAMINOPIRIMIDINAS/ SULFONAMIDA

-Trimetoprim/sulfametoxazol

NITROFURANOS

Nitrofurantoina

clasificación

Antibióticos

1. Efecto antimicrobiano

Bacteriostático

Bactericida

2. Espectro de actividad

Amplio

Reducido

3. Estructura química

B-lactámicos

Glucopéptidos

Polimixinas

Aminoglucósidos

Tetraciclinas

Fenicoles

Macrólidos

Lincosaminas

Estreptograminas

Ketolidos

Oxazolidonas

Rifampicinas

Quinolonas

Nitrofuranos

Sulfamidas

Diaminopirimidinas

4. Mecanismo de acción

Síntesis Pared celular

Integridad de Membrana plasmática

Síntesis de proteínas

Síntesis de Ácidos nucleicos

Síntesis de cofactores metabólicos

4. Clasificación según el mecanismo de acción

Inhiben síntesis de la Pared celular

- Betalactámicos (PBP).
- Glucopéptidos .

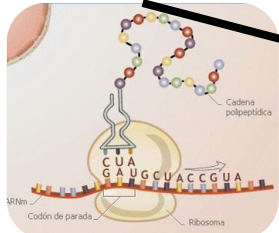
Membrana citoplasmática

- Polimixinas

Síntesis ADN, ARN

- Rifamicinas. → ARNpolimerasa
- Quinolonas. → ADNgirasa

Síntesis prot.



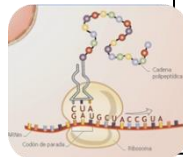
- Aminoglucósidos
- Tetraciclinas.
- Fenicoles.
- Macrólidos.
- Lincosamidas.
- Estreptograminas
- Ketólidos
- Oxazolidonas

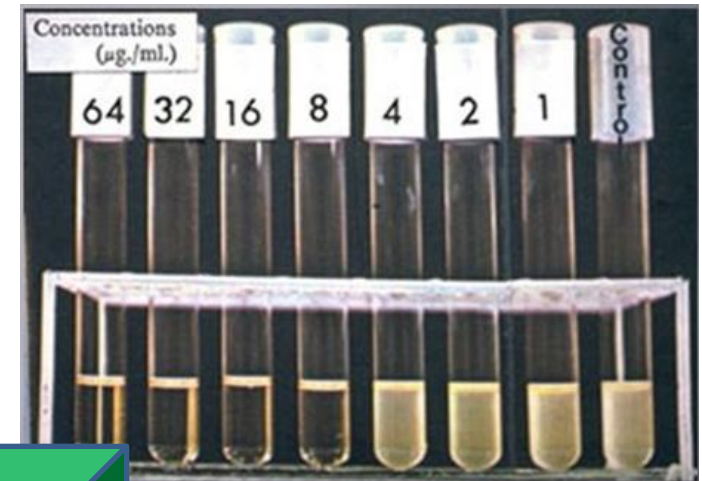
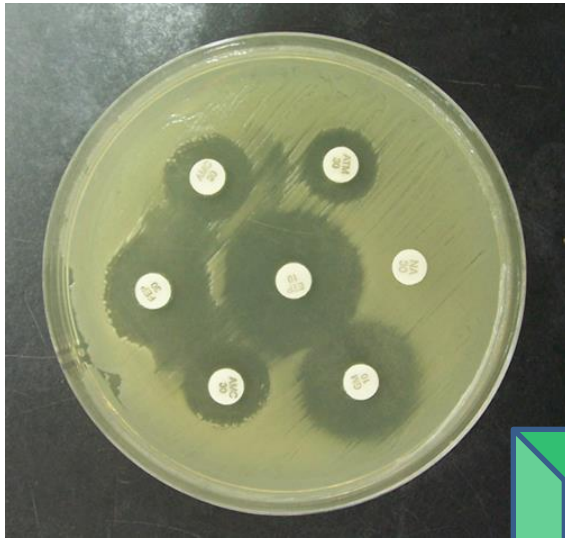
30S

50S

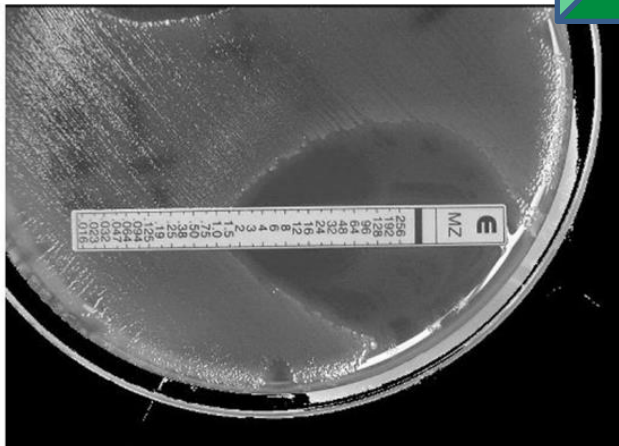
Síntesis de cofactores metabólicos

- Sulfonamidas. → Dihidropteroatosintetasa
- Diaminopiridinas → Dihidrofoloreductasa





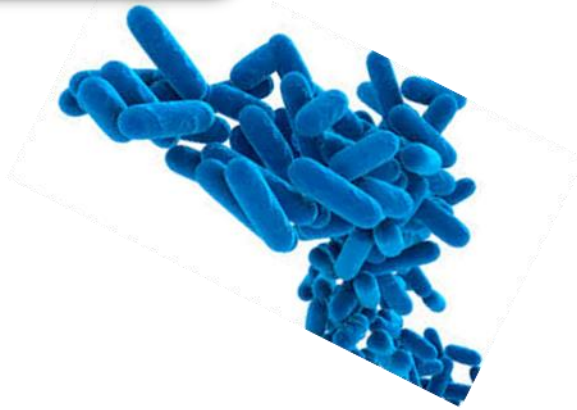
Pruebas de susceptibilidad



Pruebas de susceptibilidad

Definición

Métodos que evalúa la respuesta de una bacteria frente a concentraciones preestablecidas de antibióticos



Metodologías

Cuantitativas:

1-Concentración inhibitoria mínima (CIM)

Cualitativas:

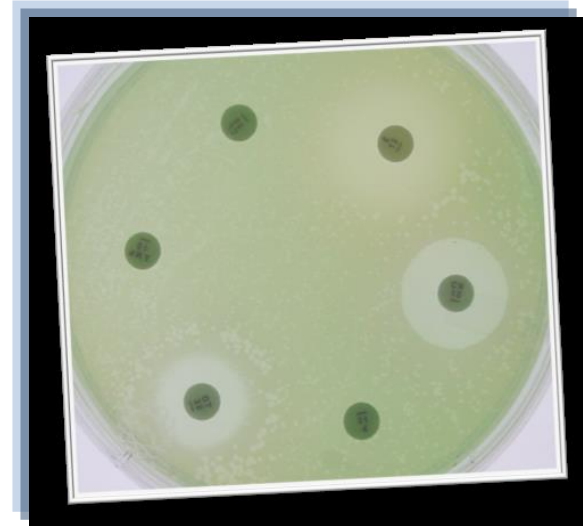
2-Difusión del disco en agar o Kirby Bauer.

*Método de dilución en caldo o agar.

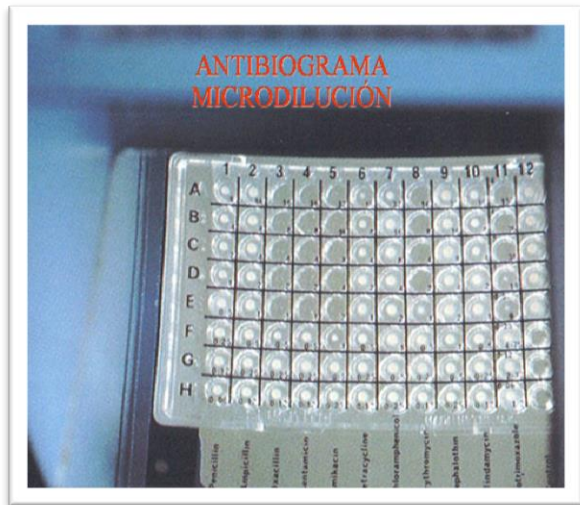
*Método Epsilométrico (Etest).

PRUEBAS PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS

1. Difusion del disco en agar (Kirby-Bauer)



2. Antibiograma ATB Rapid

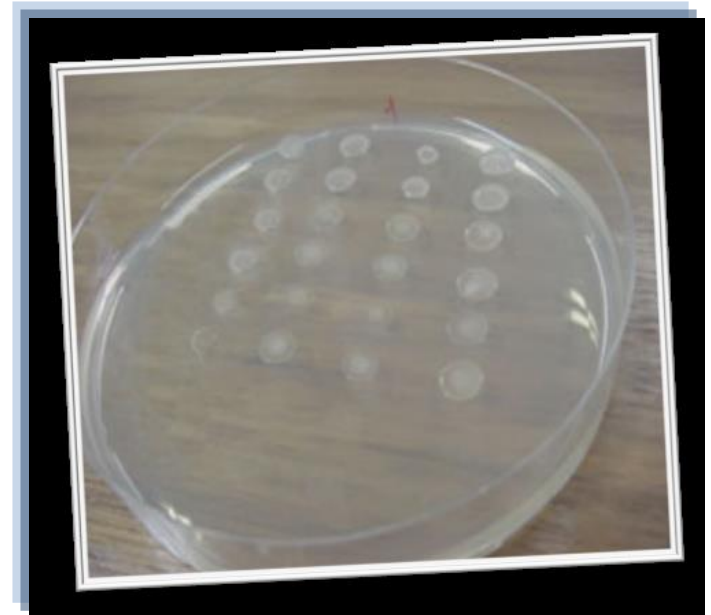
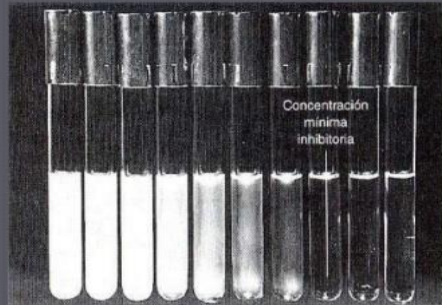


PRUEBAS PARA DETERMINAR LA SENSIBILIDAD BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS

3. Dilución en agar o caldo

CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA

- Es la mínima concentración de un antimicrobiano que inhibe la multiplicación y crecimiento visible de una cepa bacteriana en un medio de cultivo.



4. Método Epsilométrico (E test)



Ensayos de sensibilidad

- ❖ **Estandarizados**
- ❖ **Control de calidad .**

Asegurar su reproducibilidad y confiabilidad .



27th Edition

M100

Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing

This document includes updated tables for the Clinical and Laboratory Standards Institute antimicrobial susceptibility testing standards M02-A12, M07-A10, and M11-A8.

An informational supplement for global application developed through the Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process.

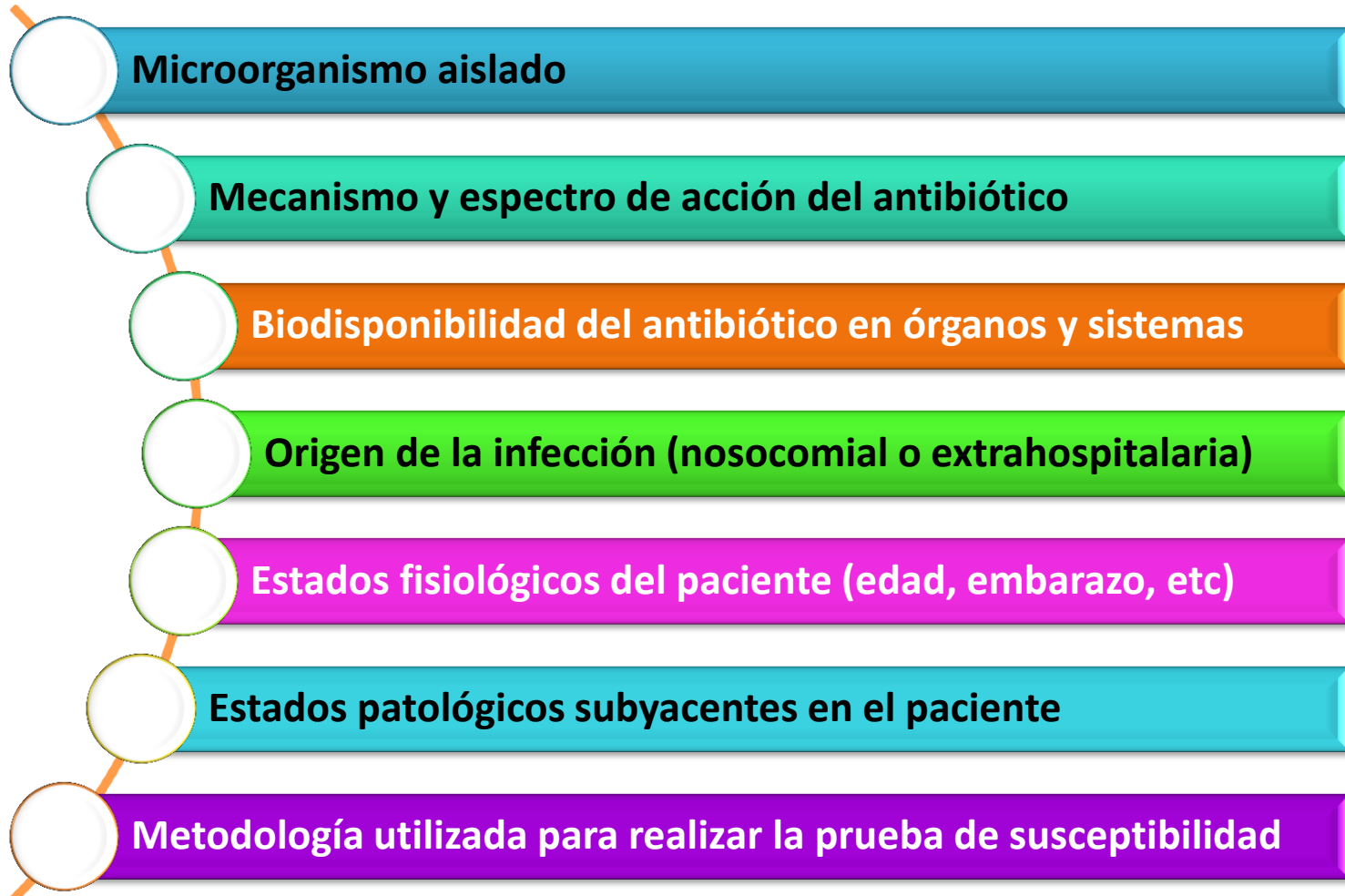
Tablas 1A - 1B lista de antibióticos sugeridos para ensayar según microorganismos.

Tablas 2A-1 2J-2 Puntos de corte

Tablas 4A- 4B rangos para el control de calidad de los discos de antibióticos

Pruebas de susceptibilidad

Elección de los antibióticos



Pruebas de susceptibilidad

Antibióticos sugeridos de acuerdo al microorganismo aislado

Enterobacterias



- Ampicilina
- Amoxicilina/acido clavulanico
- Ampicilina/sulbactam
- piperacilina/tazobactam
- Gentamicina
- Tobramicina
- Amikacina
- C2G (Cefuroxima)
- C3G (Cefotaxima)
- C4G (Cefepime)
- Ciprofloxacina
- Trimetoprin/sulfametoxazol
- Aztreonam
- Imipenem
- Meropenem

Enterobacterias (urocultivo)



- Ampicilina
- Amoxicilina/acido clavulanico
- Ampicilina/sulbactam
- C1G (Cefalotina)
- C2G (Cefuroxima)
- C3G (Cefotaxima)
- Gentamicina
- Amikacina
- Nitrofurantoina
- Ciprofloxacina
- Trimetoprin/sulfametoxazol

BGNF

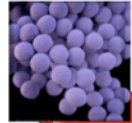


- C3G (Ceftazidima)
- C4G (Cefepime)
- Gentamicina
- Tobramicina
- Amikacina
- Ciprofloxacina
- Piperacilina/tazobactam
- Imipenem
- Meropenem
- Colistin
- **Aztreonam (sólo *Pseudomonas*)**
- **Para *Acinetobacter* sp. anexar:**
- Ampicilina/sulbactam
- C3G (Cefotaxime o ceftriazone)
- Trimetoprin/sulfametoxazol

Pruebas de susceptibilidad

Elección de los antibióticos

Antibióticos sugeridos de acuerdo al microorganismo aislado



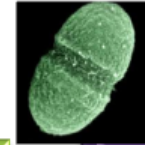
Staphylococcus sp.

- Cefoxitin (Oxacilina)
- Macrolidos (Eritromicina, claritromicina o azitromicina)
- Clindamicina
- Gentamicina
- Tetraciclina
- Trimetoprim/sulfametoxazol
- Ciprofloxacina
- Linezolid
- Vancomicina (CIM)



(urocultivo)

- Para *Staphylococcus sp.*:
- Cefoxitin (Oxacilina)
- Trimetoprim/sulfametoxazol
- Q2G (Ciprofloxacina o Norfloxacina)
- Nitrofurantoina
- Para *Enterococcus sp.*:
- Ampicilina
- Tetraciclina
- Ciprofloxacina
- Nitrofurantoina



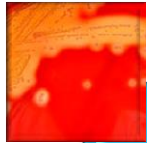
Enterococcus sp.

- Ampicilina
- Penicilina
- Vancomicina
- Linezolid
- Tetraciclina
- Getamicina y estreptomicina de alta carga (LCR)

Pruebas de susceptibilidad

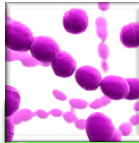
Elección de los antibióticos

Antibióticos sugeridos de acuerdo al microorganismo aislado



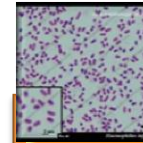
Streptococcus β -hemolítico

- Ampicilina o Penicilina
- Eritromicina
- Clindamicina
- C3G(cefotaxime, ceftriazone)
- C4G(cefepime)
- Levofloxacin



Streptococcus pneumoniae

- Oxacilina(penicilina)
- Ertromicina
- Clindamicina
- Levofloxacin o moxifloxacin
- Tetraciclina
- Trimetoprin/sulfametoxazol
- Vancomicina



Haemophilus sp.

- Para TRI
- Ampicilina
- Ampicilinasulbactam
- Q2G (Ciprofloxacina)
- Q3G (Levofloxacin)
- Q4G (Moxifloxacin)
- Macrolidos (Azitromicina o claritromicina)
- Tetraciclina
- Trimetoprin/sulfametoxazol

- Para LCR:
- Ampicilina
- C3G (cefotaxime, ceftriazone ceftazidima)
- meropenem

Pruebas de susceptibilidad

Elección de los antibióticos

Uso de los antibióticos tomando en cuenta el origen de la infección
(Hospitalaria o extrahospitalaria)

Hospitalario

- Ceftazidima
- Cefepime
- Piperacilina/tazobactam
- Carbapenemos
- Aztreonam
- Colistin
- Vancomicina

Extrahospitalarios (comunidad)

- Quinolonas
- Cefadroxilo
- Cefaclor
- Cefuroxime
- Trimetoprin/sulfametoxazol
- Ampicilina sulbactam
- Eritromicina
- Azitromicina
- Gentamicina

Pruebas de susceptibilidad

Elección de los antibióticos

Uso de antibióticos de acuerdo al estado fisiológico y
patológicos subyacentes en el paciente

Embarazo	Insuficiencia Hepática	Insuficiencia Renal	Neonato
Quinolomas Cloranfenicol Colistina Nitrofurantoína Sulfonamidas Tetraciclinas Rifampicina Metronidazol Vancomicina Aminoglucósidos	Cloranfenicol Rifampicina Tetraciclinas	Cloranfenicol Nitrofurantoína Tetraciclina Vancomicina Aminoglucósidos	Cloranfenicol Clindamicina Quinolonas Sulfonamidas Aztreonam Tetraciclinas Vancomicina

METODO DE DIFUSIÓN DEL DISCO

Recomendaciones para su ejecución:

Cepa Bacteriana

Debe provenir de un cultivo fresco, preferiblemente de un cultivo en agar, de manera de comprobar la pureza de la cepa



3 a 5 colonias de igual morfología y emulsione en 4 a 5 ml SSF

Recomendaciones para su ejecución:

INÓCULO BACTERIANO

Ajusta a la turbidez del patrón 0.5 del estándar de McFarland



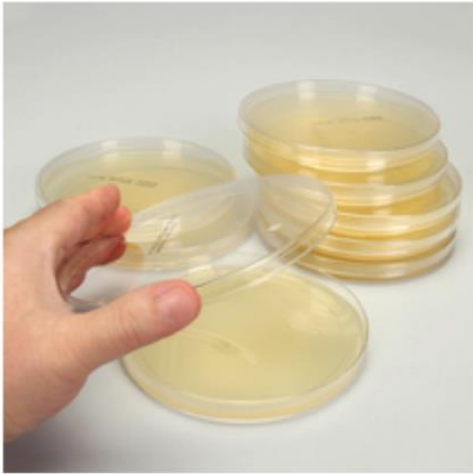
Control de calidad

- Verificar la densidad correcta del estándar en forma mensual. (absorbancia a 625 nm = 0,08 a 0,10)
- La turbidez del estándar debe ser uniforme post agitación con vórtex.
- Almacene en la oscuridad.

MEDIO DE CULTIVO

Recomendaciones para su ejecución:

- ❖ Reproducibilidad aceptable
- ❖ Baja concentración de inhibidores



Agar MUELLER-HINTON para todas aquellas bacterias aerobias y facultativas de crecimiento rápido y no exigentes.

Para bacterias exigentes:

Género *Haemophilus*: utilizar *Haemophilus Test Medium* HTM

***Streptococcus* y *Corynebacterium*: Utilizar agar Mueller-Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero.**

Para casos específicos:

Agregar 2% de cloruro de sodio al medio Mueller-Hinton para la detección de cepas de *Staphylococcus* resistentes a la meticilina u oxacilina.



NUNCA utilizar Agar chocolate, BHI, nutriente, TS, MK, MS

Factores que influyen en el agar

Efectos de la timidina o timina sobre el agar Mueller Hinton

Medios con exceso de timidina dan falsa resistencia a sulfonamidas y trimetoprim.

Influencia de la variación de cationes divalentes sobre el agar Mueller Hinton:

- ❖ La variación de Ca^{++} y Mg^{++} afecta los halos de inhibición para aminoglucósidos y tetraciclinas en *Pseudomonas aeruginosa*.
- ❖ El contenido excesivo de cationes produce halos de falsa resistencia

Factores que influyen en el agar

Efectos del pH sobre el agar Mueller Hinton

(el rango de pH va de 7,2 a 7,4)

pH ácido:

- Pierden potencia los aminoglucósidos y macrólidos.
- Aumenta la actividad de penicilinas.

pH alcalino: los efectos son opuestos.

Humedad:

- ❖ Si existe un exceso de humedad en la superficie del agar las placas deben ser incubadas a 35°C durante 10 a 30 minutos antes de utilizarse.
- ❖ Las placas no deben mostrar gotas de agua en la superficie

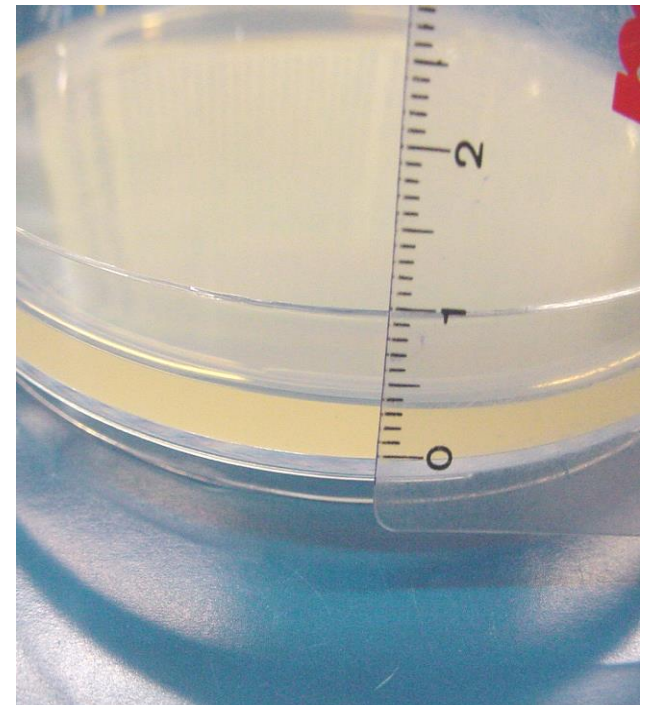
Factores que influyen en el agar

Influencia de la profundidad del agar Mueller Hinton:

- ❖ La profundidad recomendada de la capa de agar es de 4 mm.
- ❖ Una profundidad < 4 mm genera lecturas falsamente susceptibles.
- ❖ Una profundidad > 4 mm genera lecturas falsamente resistentes

60 a 70 mL → 150 mm
25 a 30 mL → 90 mm

} 4 mm



Recomendaciones para su ejecución:

INOCULACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

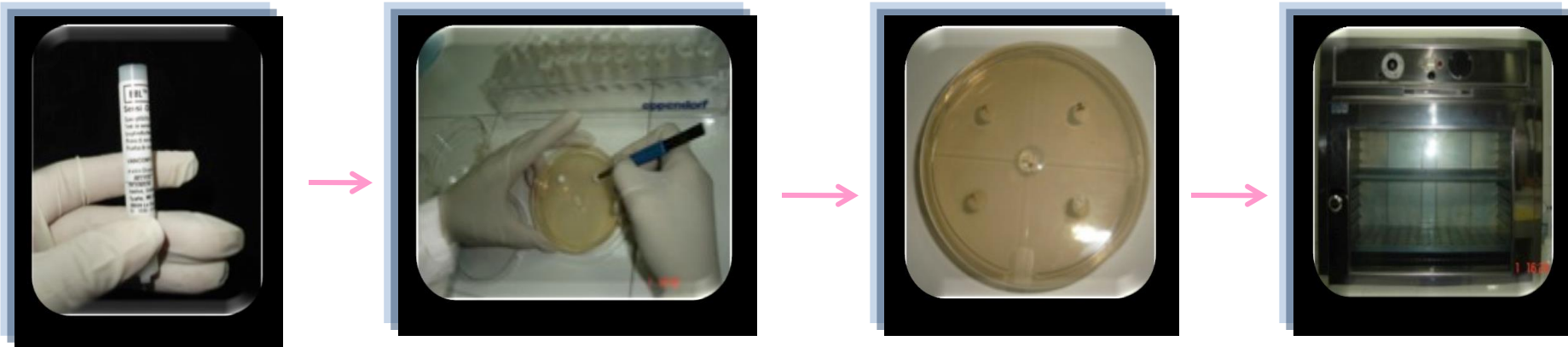
- Asegurarse que las placas con medio de cultivo no estén húmedas.
- Inocular el medio con un hisopo estéril cubriendo toda la superficie.
- Dejar secar por unos 5 minutos y colocar los discos de antibióticos.



Recomendaciones para su ejecución:

DISCOS DE ANTIBIÓTICOS

Colocar sólo hasta 6 discos por placa y ubicarlos en forma equidistantes tratando de intercalar antibióticos con diferentes mecanismos de acción.



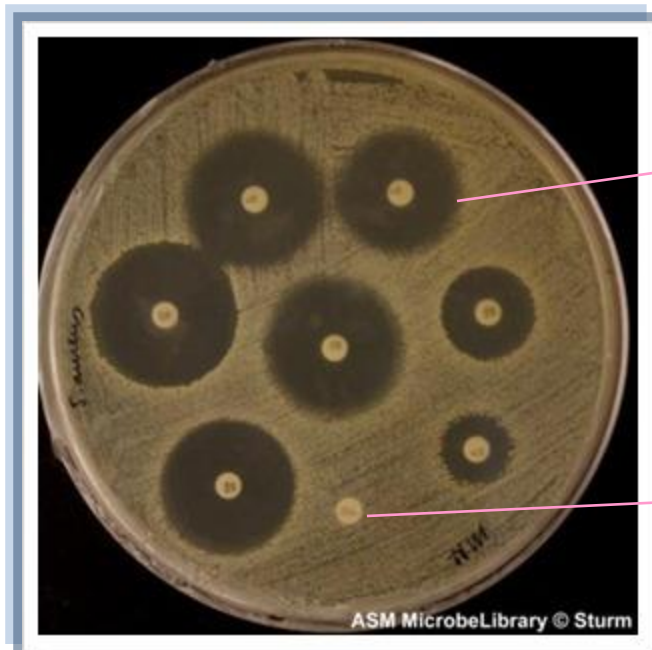
Control de calidad

Comprobar la efectividad de los mismos por lo menos una vez al mes, utilizando las cepas de referencia internacional

Recomendaciones para su ejecución:

LECTURA DEL ANTIBIOGRAMA

- ❖ Hacer las lecturas después de 18 -24 horas de incubación y medir los halos de inhibición con una regla milimetrada.
- ❖ Hacer la interpretación de acuerdo a las normas y tablas de la CLSI actualizadas



Pasos para realizar un antibiograma



Interpretación

7



Tabla 8 Puntos de corte vigentes para carbapenémicos y Piperacilina/tazobactam en *P.aeruginosa*

Agente	Disco difusión (mm)			Microdilución (µg/mL)		
	S	I	R	S	I	R
Imipenem	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8
Meropenem	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8
Doripenem	≥ 19	16-18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8
Pip-tazo	≥ 21	15-20	≤ 14	≤ 16/4	32/4-64/4	≥ 128/4

De acuerdo a las normas y tablas del CLSI: Sensible, intermedia, resistente, dosis dependiente (SDD)

CLSI, 2018

Table 2C
Staphylococcus spp.
M02 and M07

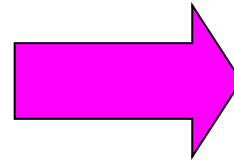
Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
FLUOROQUINOLONES (Continued)									
O	Sparfloxacin	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 0.5	1	≥ 2	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≥ 19	16–18	≤ 15	≤ 2	4	≥ 8	
NITROFURANTOINS									
U	Nitrofurantoin	300 µg	≥ 17	15–16	≤ 14	≤ 32	64	≥ 128	
LINCOSAMIDES									
A	Clindamycin	2 µg	≥ 21	15–20	≤ 14	≤ 0.5	1–2	≥ 4	(27) Inducible clindamycin resistance can be detected by disk diffusion using the D-zone test or by broth microdilution (see Table 3G, Subchapter 3.10.1 in M02-A12, and Subchapter 3.14.1 in M07-A10). See comment (23).
FOLATE PATHWAY INHIBITORS									
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≥ 16	11–15	≤ 10	≤ 2/38	–	≥ 4/76	

FUENTES DE ERROR MÁS COMUNES EN LA REALIZACIÓN DE UN ANTIBIOGRAMA

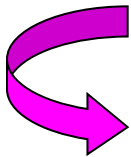
1. Falta del control de calidad de los medios de cultivo a utilizar, patrón de McFarland y los discos de antibióticos.
2. Trabajar con cepas bacterianas que no están puras.
3. Inadecuada estandarización de la concentración del inóculo.
4. Utilización de un número excesivo de discos de antibióticos por placa.
5. Utilización de medios de cultivo no aptos para las pruebas de susceptibilidad.
6. Lectura prematura o extemporánea de las pruebas de susceptibilidad.
7. Medición incorrecta de los halos de inhibición por una iluminación deficiente o reglilla inadecuada.
8. Incubación y atmósfera inadecuadas.
9. Error en la transcripción de los resultados en la hoja de reporte

IMPORTANCIA DE LA LECTURA INTERPRETADA DEL ANTIBIOGRAMA



Deducir
mecanismos de
resistencia

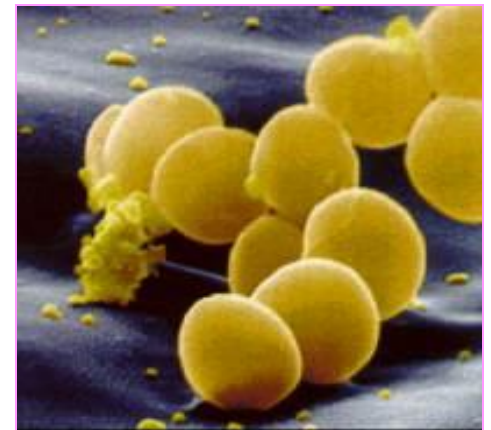
Objetivos principales



- ◉ Detectar la resistencia
- ◉ Predecir el fracaso terapéutico

Interpretación Clínica y Microbiológica del Antibiograma en Cocos grampositivos

Género: Staphylococcus



Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en bacterias Gram positivas

Resistencia a β -lactámicos

☐ Producción de β -lactamasas

1 Penicilinasas

Staphylococcus

☐ Alteración del sitio de acción

1 Modificación de las PBP (gen *mecA*)

Staphylococcus
Streptococcus pneumoniae

Resistencia a Macrólidos Lincosaminas y Estreptograminas (MLS)

☐ Alteración del sitio de acción

1 Modificación a nivel ribosomal (gen *erm*)

Staphylococcus, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus β -hemolítico*

Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en bacterias Gram positivas

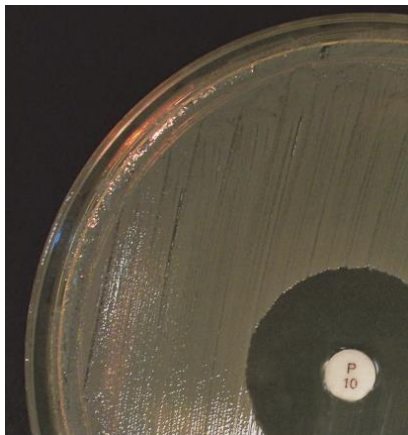
Resistencia a β -lactámicos

1

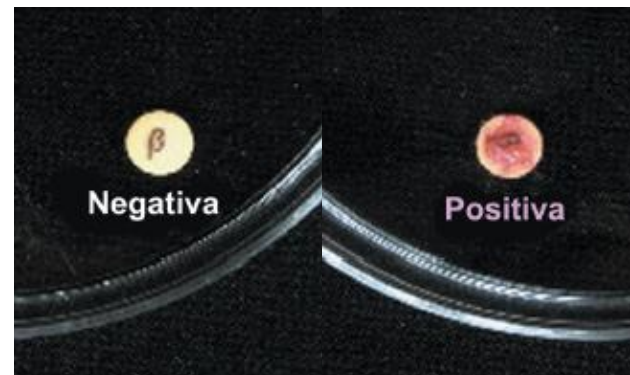
β -lactamasa tipo penicilinas

Confiere resistencia sólo a las penicilinas, excepto las penicilinas resistentes a las β -lactamasas (oxacilina, meticilina, cloxacilina y dicloxacilina)

Métodos fenotípicos: Prueba del borde del halo de penicilina y/o Prueba con Nitrocefina



borde del halo de penicilina



Prueba con Nitrocefina

Genero *Staphylococcus*

Prueba del borde del halo de

AMH

0.5 McF

35-37°C

16-18 hr

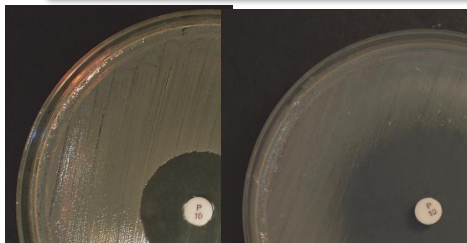


Table 2C. *Staphylococcus* spp. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)			Interpretive Categories and MIC Breakpoints (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
PENICILLINASE-LABILE PENICILLINS									
(8) Penicillin-susceptible staphylococci are susceptible to other β-lactam agents with established clinical efficacy for staphylococcal infections (including both penicillinase-labile and penicillinase-stable agents; see Glossary I). Penicillin-resistant staphylococci are resistant to penicillinase-labile penicillins.									
A	Penicillin	10 units	≥29	—	≤28	≤0.12	—	≥0.25	(9) Penicillin should be used to test the susceptibility of all staphylococci to all penicillinase-labile penicillins (see Glossary I). Penicillin-resistant strains of staphylococci produce β-lactamase. Perform testing to detect β-lactamase which the penicillin diameters ≥29 mm are as penicillin staphylococci that e production may actamase tests. fections requiring should perform MIC on all subsequent isolates from the same patient. PCR testing of the isolate for the blaZ β-lactamase gene may be considered. See Tables 3E and 3F.
PENICILLINASE-STABLE PENICILLINS									

Reportar resistente a todas las penicilinas

Diámetro del halo: ≤

Antes de reportar

Diámetro del halo: ≤

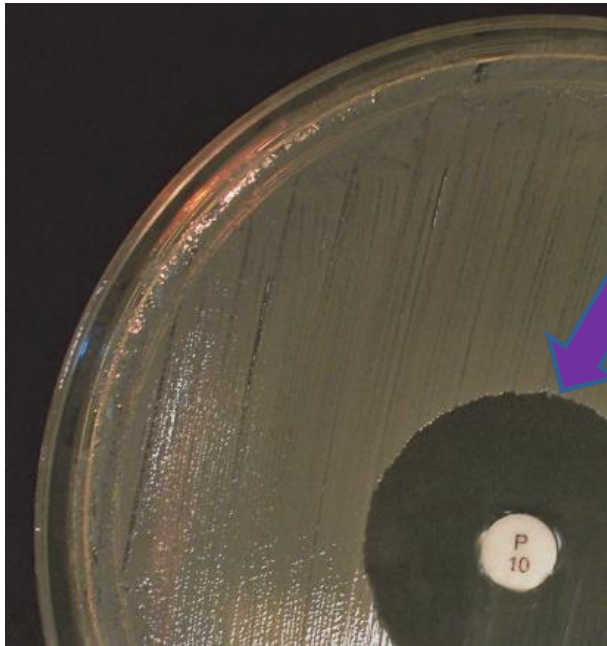
Reportar resistente a todas las penicilinas

Diámetro del halo: ≥

Antes de reportar sensibles a todas las penicilinas se debe evaluar el borde del halo de penicilina

Prueba del borde del halo de penicilina

S. aureus



Un borde definido indica producción de betalactamasa

Reportar resistente a todas las penicilinas excepto las penicilinas resistentes a Las β -lactamasas

Figura 1. Prueba positiva del borde del halo de penicilina (Penicillin zone-edge test)

Un borde difuso indica que no hay producción de betalactamasa

Reportar sensible a todas las penicilinas

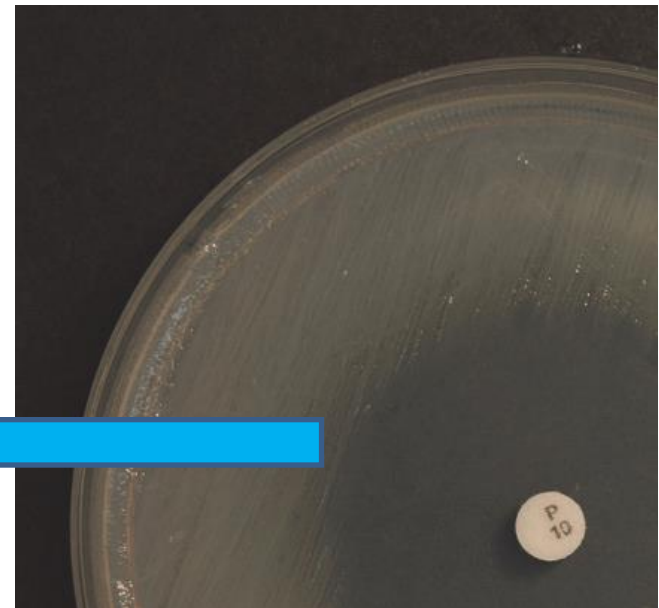


Figura 2. Prueba negativa del borde del halo de penicilina (Penicillin zone-edge test)

Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en bacterias Gram positivas

Resistencia a β -lactámicos
Meticilina

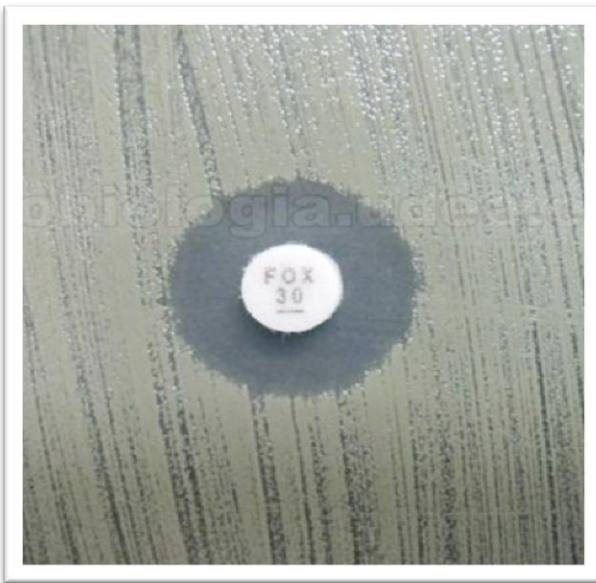
1

Modificación de las PBP (*gen mecA*)

Confiere resistencia a todos los β -lactámicos
incluyendo los combinados con
inhibidores de betalactamasas

Género *Staphylococcus*

Método fenotípico: difusión del disco de cefoxitin 30ug (FOX)



S. aureus and *S. lugdunensis*

≤ 21 mm (R) = *mecA* positivo
 ≥ 22 mm (S) = *mecA* negativo

SCN

≤ 24 mm (R) = *mecA* positivo
 ≥ 25 mm (S) = *mecA* negativo

Oxacilina

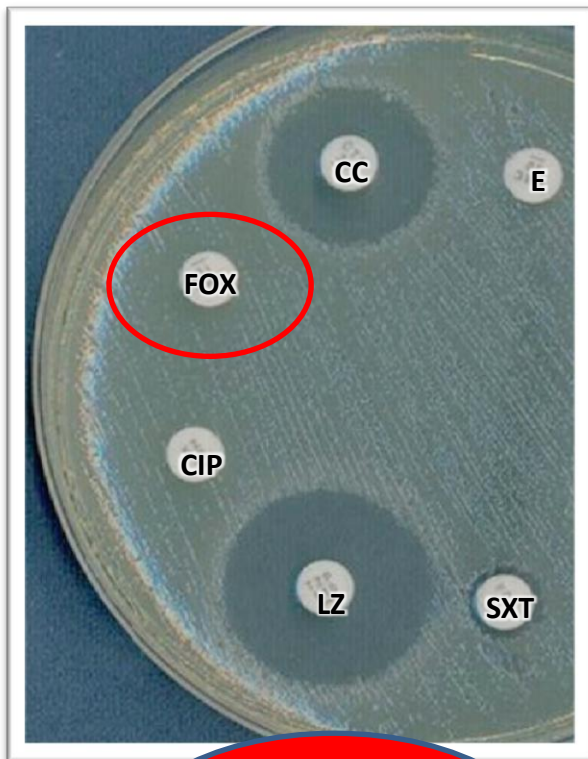
T° 35°C
18-24h

Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en bacterias Gram positivas

Resistencia a β -lactámicos

1

Modificación de las PBP (*gen mecA*)



**NO
REPORTAR
CEFOXITIN
(FOX)**

Identificación:

Staphylococcus aureus meticilino resistente

<u>Antibióticos</u>	<u>Categoría</u>
Oxacilina	R
Eritromicina	R
Clindamicina	S
Trimetopim/sulfametoxazol	R
Linezolid	S
Ciprofloxacina	R

Observación: Este microorganismo expresa el gen *mecA*, por consiguiente es resistente a todos los antibióticos β -lactámicos, incluyendo los combinados con inhibidores de betalactamasas

Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en bacterias Gram positivas

Resistencia a MLS

1

Modificación a nivel ribosomal (ARNr 23S) por la acción de metilasas codificadas por el gen *erm* (*gen erm*)

**Confiere resistencia a Macrólidos, lincosaminas
estreptograminas**

**Constitutiva:
MLSc**

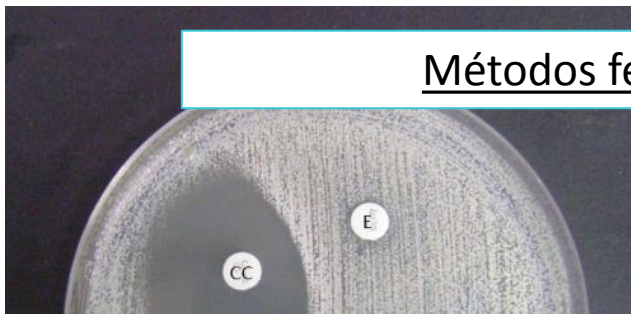
Hay clara resistencia a eritromicina y clindamicina

**Inducible:
MLS_i**

La forma inducible puede presentar resistencia a la eritromicina y falsa sensibilidad a la clindamicina.

Inductor: Eritromicina

Métodos fenotípicos: aproximación del disco



Discos de antibióticos a utilizar:

Eritromicina y clindamicina

Distancia:

15-26 mm de centro a centro

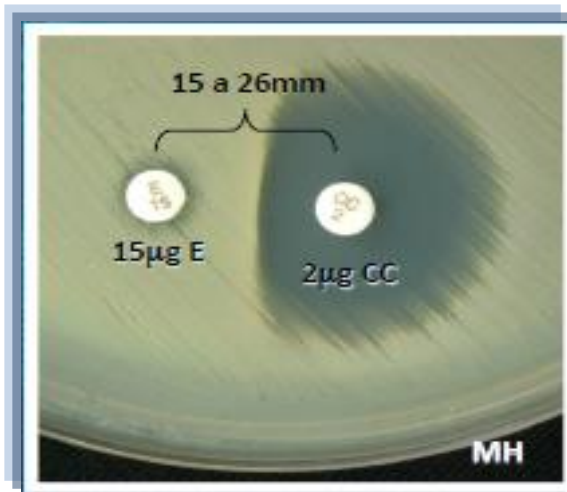
Mecanismos de Resistencia (MLS)

Macrolidos, lincosamidas y estreptogramina

Alteración del sitio blanco (ribosoma)

- Metilasas: metilación 23S ARNr (*erm*)

originando fenotipo iMLS, cMLS.



D-Test

La forma inducible puede presentar resistencia a la eritromicina y falsa sensibilidad a la clindamicina.

INTERPRETACION

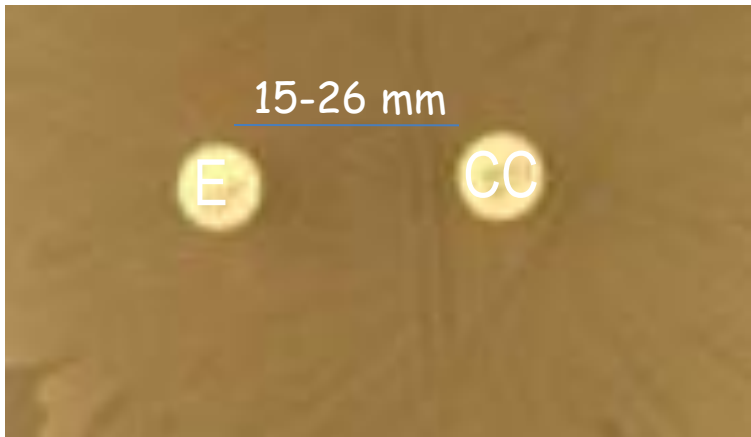
✓ **NEGATIVO:** halo de inhibicion de clindamicina circular.

✓ **POSITIVO:** efecto D CC=R

Fallo clínico con clindamicina y estreptograminas

RESISTENCIA A MACROLIDOS, LINCOSAMINAS Y ESTREPTOGRAMINAS (MLS)

Fenotipo MLSc



Resistencia absoluta a Eritromicina y Clindamicina sin achatamiento en el halo de clindamicina adyacente a eritromicina

RESISTENCIA A MACROLIDOS, LINCOSAMINAS Y ESTREPTOGRAMINAS (MLS)

Fenotipos MLSi y MLSc

INTERPRETACION

✓ Ante la presencia de resistencias de este tipo reportar resistencia a todos los miembros de los macrólidos, lincosaminas y estreptograminas .

✓ Se puede incluir el siguiente comentario: se presume que el microorganismo es resistente a todos los miembros de los macrólidos, lincosaminas y estreptograminas , basado en la detección de resistencia inducible a clindamicina.

DETECCIÓN DE MECANISMOS DE RESISTENCIA EN BACTERIAS GRAMNEGATIVAS



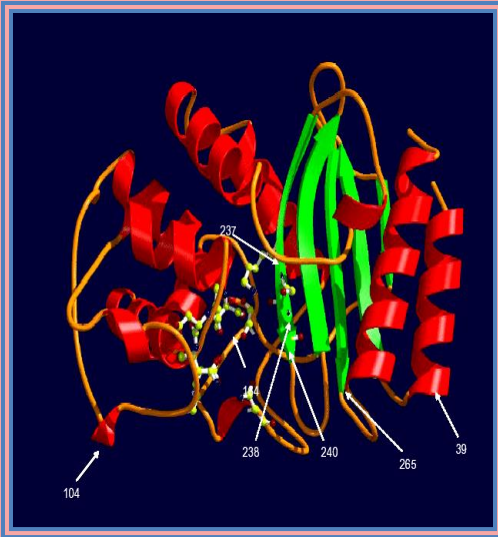
Enterobacteriaceae
Pseudomonas aeruginosa
Acinetobacter

Mecanismo de Resistencia detectados en bacilos gramnegativos

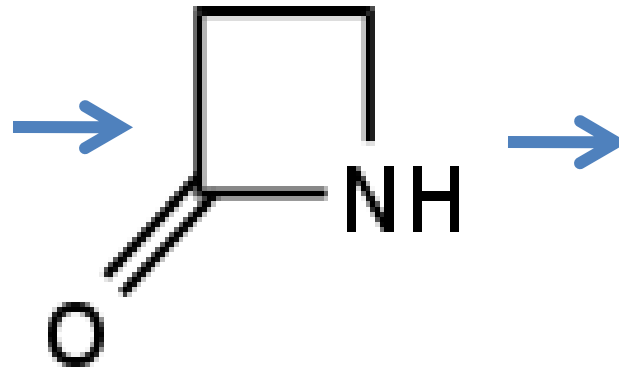
PRODUCCION DE ENZIMAS

- 1) β -lactamasa de Espectro Extenso (BLEE)
- 2) Metallo-Betalactamasa (Carbapenemasa)
- 3) KpC (Carbapenemasa)

β -lactamasas



Codificadas en un gen cromosómico
genes localizados en plásmidos

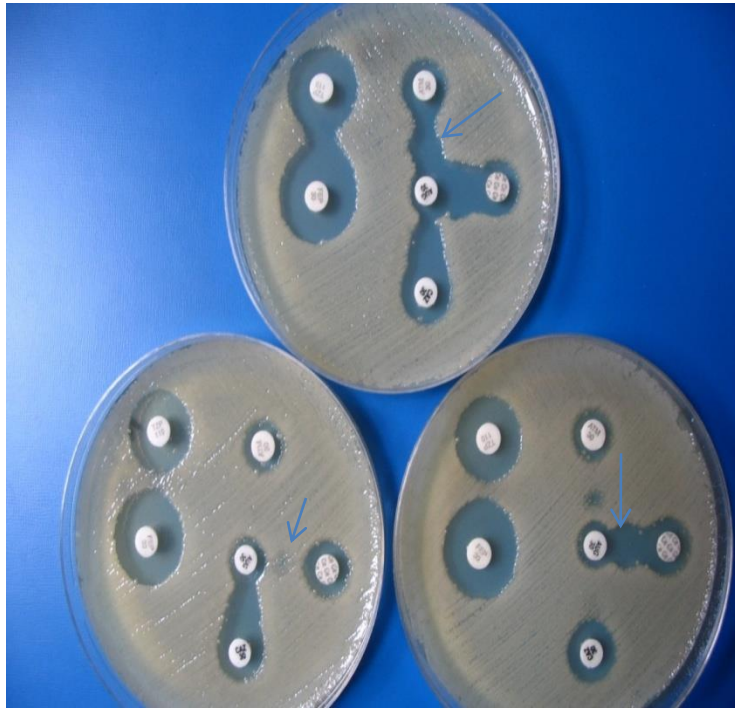


Antibiótico inactivo

Detección de Mecanismos de Resistencia en bacilos gramnegativos

β -LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) (Clase A)

Presentan resistencia a cefalosporinas de 3ra y 4ta generación, penicilinas de espectro extendido y monobactámicos. No actúan sobre las cefamicinas ni carbapenemos. Son inhibidas por el ácido clavulánico.



Detección de Mecanismos de Resistencia en bacilos gramnegativos

1) DETERMINACION DE β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)



PRUEBA DE APROXIMACION DE LOS DISCOS:

Cefotaxima (CTX)

Cetazidima (CAZ)

Cetriacone (CRO)

Aztreonam (ATM)

Amoxicilina/Acido clavulanico (AMC)

INTERPRETACIÓN

✓ Reportar resistencia a todos los β -lactámicos, excepto carbapenemos



Como detectar
Cepas con
CARBAPENEMASAS

Carbapenemasas: características generales

Las carbapenemasas representan la familia mas versátil de beta-lactamasas, estas enzimas tienen la habilidad de hidrolizar carbapenemes y en su gran mayoría hidrolizan casi todos los betalactámicos de uso clínico.

Grupos de carbapenemasas

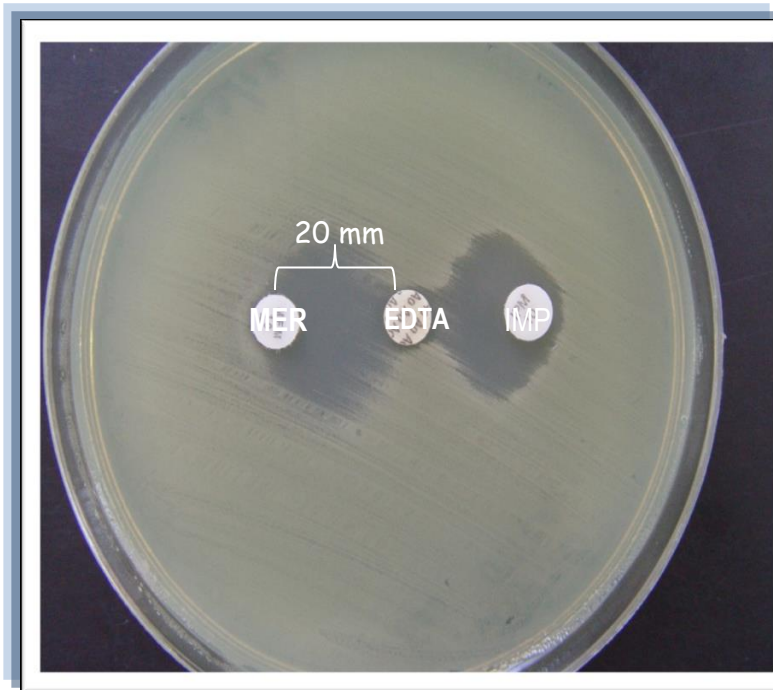
Clase A: Familias SME, IMI, NMC, GES y KPC

Metalobetalactamas : Familias IMP, VIM, SPM, GIM y SIM

Clase D: Tipo OXA beta-lactamasas.

Detección de Mecanismos de Resistencia en bacilos gramnegativos

4) PRUEBA FENOTIPICA PARA LA DETERMINACION DE METALO β -LACTAMASA (grupoB)



PRUEBA DE APROXIMACION
DE LOS DISCOS:

Usar discos de Carbapenemos

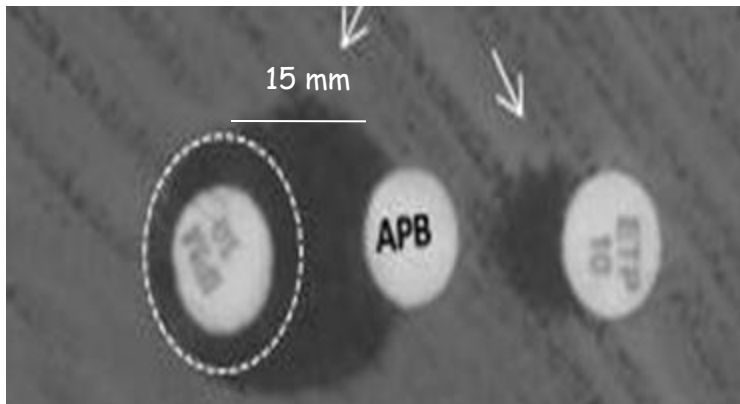
Usar EDTA

INTERPRETACION

Microorganismo resistente a
 β -lactámicos excepto al
aztreonam. Presencia de
metalo- β -lactamasa.

Detección de Mecanismos de Resistencia en bacilos gramnegativos

5) PRUEBA FENOTIPICA PARA LA DETERMINACION DE CARBAPENEMASA TIPO KPC (grupo A)



35-37°C por 16-18h

PRUEBA DE APROXIMACION DE LOS DISCOS:

Usar discos de Carbapenemos
Usar disco ácido bornico

INTERPRETACION

Microorganismo resistente a todos los β -lactámicos
Presencia de Carbapenemasa tipo KPC.