

CLSI Subcomité de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (AST)

CLSI Boletín de noticias

El Outreach Working Group (ORWG) de CLSI ofrece este boletín de noticias para destacar los temas más importantes relacionados con las pruebas de antimicrobial susceptibility testing (AST) y el reporte de resultados. Listamos hipervínculos a los materiales educativos más recientes y le recordamos donde puede encontrar información acerca de los procedimientos del subcomité de AST de CLSI.

.....

Miembros:

Janet A. Hindler (Co-Directora), UCLA Health System, USA
Audrey N. Schuetz (Co-Directora), Mayo Clinic, Rochester, USA
April Abbott, Deaconess Health System, USA
Stella Antonara, Nationwide Children's Hospital, USA
April Bobenchik, Lifespan Academic Medical Center, USA
Mariana Castanheira, JMI Laboratories, USA
Angella Charnot-Katsikas, University of Chicago, USA
Marcelo Galas, National Institute of Infectious Disease, Argentina
Romney Humphries, UCLA Health System, USA
Violeta Rekasius, Loyola University Medical Center, USA
Nicole Scangarella-Oman, GlaxoSmithKline, USA
Lars Westblade, Weill Cornell Medical College, USA

¿Que hace el comité de Pruebas de susceptibilidad de CLSI?

La primera edición de este boletín de noticias describe los detalles acerca de la organización y operación del comité AST de la CLSI.

- Acceda a ese boletín [aquí](#).
- Para saber más de pasadas y próximas reuniones, haga clic [aquí](#).
- Actas post reuniones de CLSI y resúmenes de acceso público [aquí](#).

¿Está interesado en ser un voluntario de CLSI? Conozca más [aquí](#).

Por favor recuerde que el subcomité de AST CLSI, recibe sugerencias de usted relacionadas con cualquier aspecto de los documentos CLSI, materiales educativos o este boletín de noticias.

En esta edición:

La iniciativa One Health	4
¿Que es la Antibiotic Resistance Laboratory Network (ARLN)?	5
Un nuevo test fenotípico para la detección de Carbapenemasas - The Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM)	7
Carbapenems y Enterobacteriaceae: Cual es la diferencia entre CRE vs productores de carbapenemasa (CP)- ¿CRE vs no-CP-CRE?	9
Nuevos desarrollos en pruebas de susceptibilidad antifúngica – Puntos de corte específicos para especies de <i>Candida</i> spp.....	10
El acta de curas para el siglo 21 y el futuro de AST	13
Tema Candente – Carbapenemasas OXA...14	
En memoria – Dr. Paul Schreckenberger	17

Alianzas del subcomité de pruebas de susceptibilidad CLSI

Representantes con experiencia en antimicrobianos de las siguientes organizaciones, asisten y participan en el subcomité de AST de CLSI y apoyan en la disseminación de la información acerca de las decisiones del subcomité y asuntos relacionados con susceptibilidad antimicrobiana.

American Society for Microbiology (ASM)

Association of Public Health Laboratories (APHL)

ASTM International

College of American Pathologists (CAP)

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)

Infectious Diseases Society of America (IDSA)

Pediatric Infectious Diseases Society (PIDS)

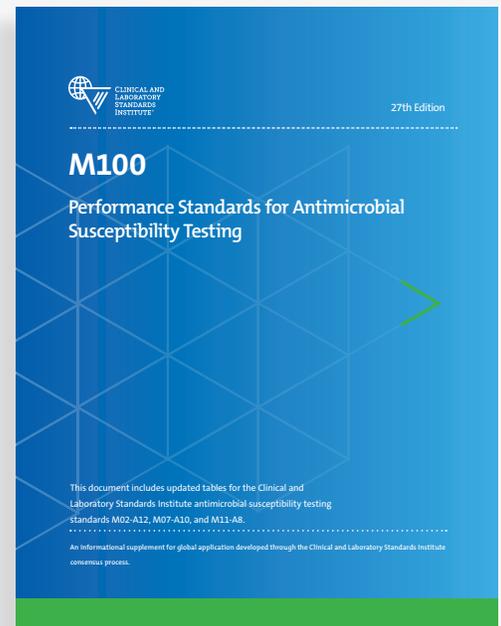
Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA)

Susceptibility Testing Manufacturers Association (STMA)

Documentos actualizados de AST CLSI – ¿Que hay de nuevo?

M100S 27th ed. Cambios principales en: “Estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana; Vigésimo séptimo suplemento informativo” incluye:

- CLSI ahora únicamente utiliza el término “punto de corte”; se discontinuó el uso de “categoría interpretativa”
- Se aclaró el tamizaje y reporte de resultados para:
 - Colistina/Polimixina B con *P. aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*
 - *S. aureus* atípicos (de pobre crecimiento)
 - *Staphylococcus coagulasa* negativa y oxacilina.
- Definiciones ampliadas/discusión de ECVs y adición de ECVs para:
 - Colistina – Enterobacteriaceae
 - Azithromycin – *Neisseria gonorrhoeae*
- Adición del mCIM para detectar carbapenemasas en *Enterobacteriaceae*
- Control de calidad/Aseguramiento de calidad:
 - Rangos modificados de QC para disco difusión en:
 - Cefepime - *P. aeruginosa* ATCC 27853
 - Meropenem - *E. coli* ATCC 25922
 - Modificación en Rangos de CIM para
 - Meropenem - *P. aeruginosa* ATCC 27853
 - Tedizolid - *S. aureus* ATCC 29213
 - Adición de rangos de QC para varias drogas nuevas que se encuentran en desarrollo (No disponibles aun para uso en humanos)
 - Guía expandida para la resolución de problemas de CIM.
- Sugerencias adicionales para confirmación de resultados de antimicrobianos resistentes para *B. fragilis*
- Se eliminó a tetraciclina de las resistencias intrínsecas en *M. morgani*



Para más información disponible del M100, incluyendo la versión Web de solo lectura, haga clic [aquí](#).

Archivo para puntos de corte eliminados:

Un archivo de puntos de corte removidos del M100 desde 2010, junto con la justificación para su remoción, se encuentra disponible [aquí](#).

Webinars

Para información de webinars por favor ingrese [aquí](#). Webinars de CLSI recientemente archivados puede ser accedidos bajo pedido. Aprenda más sobre la disponibilidad de programas [aquí](#).

Webinars bajo pedido:

- *Practical Recommendations for Antifungal Susceptibility Testing and Reporting in Clinical Laboratories: New Drugs, New Breakpoints, New Guidelines**
- *Facts and Fiction about Colistin from Clinical and Public Health Perspectives**
- *Verification of Commercial Microbial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing Systems**
- *Navigating CLSI Document M100: Antimicrobial Susceptibility Testing Made Easy**
- *CLSI 2017 Antimicrobial Susceptibility Testing Update**

Webinars Gratis

Los webinars están disponibles sin costo, seis a doce meses después del evento agendado para miembros CLSI. Por favor contacte a CLSI para mayor información de como acceder a estos webinars gratis.

Próximos webinars (¡Detalles de registro serán publicados pronto!)

Octubre 17, 2017

3rd Annual CAP-CLSI Webinar – Digging Deeper into AST Challenges*

Angella Charnot-Katsikas, MD

Universidad de Chicago, Chicago, Illinois

Romney M. Humphries, PhD D(ABMM)

UCLA Health, Los Angeles, California

Octubre 19, 2017

5th Annual CLSI-SIDP Webinar – Merging Microbiology and Stewardship: CLSI updates on antimicrobial susceptibility testing and advances in detecting and managing *Clostridium difficile**

Jennifer Dien-Bard, PhD D(ABMM)

Hospital de niños, Los Angeles, California

Dhara Surati, PharmD, BCPS

Universidad de Houston, Houston, Texas

*Este webinar está en inglés solamente.

Webinars en AST: ASM/CLSI 2017

ASM y CLSI han estado coordinando una serie de webinars titulados “A Comprehensive Course in Antimicrobial Susceptibility Testing*”, el cual esta dirigido a nivel de tecnólogos de laboratorio. Este programa esta siendo presentado en tres partes con una serie de 5 o 6 conferencias en cada una. Las primeras dos partes han sido completadas y las presentaciones estan disponibles bajo pedido con un costo. Clic en los links abajo para aprender más:

Part I. Fundamentals of Susceptibility Testing, Reporting, and Test Validation*

Part II. Mechanisms of Resistance, Antimicrobial Stewardship, and Infection Prevention*

Part III. Special Antimicrobial Susceptibility Tests - scheduled to be presented Fall 2017*

¡Dale un vistazo! Talleres educativos en las reuniones de CLSI.

Para que coincidan con las semanas de comités de CLSI en enero y junio, el ORWG coordina un taller educacional presencial, tradicionalmente desarrollado en la tarde del sábado antes de las reuniones de los grupos de trabajo del subcomité de AST.

El próximo taller será el sábado 24 de Junio de 2017 en Filadelfia y estará titulado “New and Successful Approaches to Antimicrobial Stewardship: The Role of the Microbiology Laboratory.*”. Los laboratorios de microbiología clínica juegan un rol critico en implementar, influenciar y ejecutar programas de Antimicrobial Stewardship exitosos con la finalidad de mejorar el cuidado del paciente. Algunos de los temas a ser tratados durante este taller incluyen: Antimicrobial stewardship en el hospital, instituciones de cuidado crónico y ambulatorios, el rol de las pruebas rapidas y reporte interpretativo, y el rol de los antibiogramas hospitalarios en Antimicrobial Stewardship. El taller de enero 2017 se concentró

en “One Health – One Medicine”, uniendo salud humana, animal y medio-ambiental. (mire el artículo en este boletín, página 4).

Presentaciones de powerpoint de los talleres pasados se pueden encontrar [aquí](#).

¡Próximas reuniones de AST CLSI

Del 25-27 de Junio del 2017

Filadelfia, Pensilvania, USA

Del 28-30 de Enero del 2018

Dallas, Texas, USA

Del 3-5 de Junio del 2018

San Diego, California, USA

La iniciativa One Health:

La iniciativa Una salud, es un movimiento que fue lanzado en 2006 y es “una estrategia global para expandir las colaboraciones interdisciplinarias y las comunicaciones en todos los aspectos del cuidado de la salud para humanos, animales y el medio ambiente”. CLSI ha estado involucrado en la iniciativa Una salud de una manera práctica por 25 años a través de los subcomités para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (AST) que establecen estándares para tests de laboratorio en los sectores humano y veterinario. Las bacterias aisladas de animales pueden volverse zoonóticas y causar enfermedad en las personas, a través de transmisión por alimentos (Ej *Salmonella* o *Campylobacter*), contacto directo (Ej *Staphylococcus pseudintermedius*), o posiblemente a través de contaminación ambiental. Igualmente, muchos patógenos humanos comunes son antroponóticos (transportados por humanos y luego transferidos a animales; un ejemplo es *Cryptosporidium*) y pueden producir colonización y enfermedad en animales domésticos y animales de compañía. Como reconocimiento al aniversario 25º del subcomité de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana veterinaria (VAST), se llevó a cabo un taller educacional durante la semana de comités de CLSI en Enero de 2017. Cada expositor discutió los intereses compartidos que existen entre los comités AST y VAST y entre medicina de laboratorio humana y animal.

El Dr. Jeff Watts de Zoetis Animal Health, subrayó las recomendaciones clave de la OMS (Organización mundial de la salud), la OIE (organización mundial para la salud animal) y la FAO (Organización de alimentos y agricultura), los cuales recomiendan guías de uso responsable de los antibióticos y programas de monitoreo de la resistencia antimicrobiana (AMR) con una metodología armonizada de las pruebas de susceptibilidad. Las guías de uso responsable requieren la identificación y pruebas de susceptibilidad de patógenos animales y de patógenos humanos. Los métodos VAST están descritos en el documento VET01-A4 (estándares de desempeño para pruebas de susceptibilidad en disco y dilución en caldo para bacterias aisladas de animales. Estandar aprobado cuarta edición) y los puntos de corte están listados en el documento VET01S-Ed3. Estos documentos, cubren animales de compañía y animales para alimento, los patógenos de las infecciones más importantes y antibióticos usados para tratarlas. El Dr. Watts discutió el valor que los programas AMR pueden encontrar en el documento VET05-R (Generación, presentación y Aplicación de datos de pruebas de susceptibilidad para bacterias de origen animal; Un reporte) el cual enfatiza el uso de los métodos CLSI para asegurar comparabilidad de los datos acumulados de las pruebas de susceptibilidad. Un reciente blog en el sitio web de la comisión de la iniciativa Una salud, amplió el rol clave de la metodología CLSI para comparar datos de susceptibilidad a través de las instituciones y puede ser accedido [aquí](#).

El Dr. Mark Papich, profesor de farmacología veterinaria en la universidad de Carolina del Norte, revisó como la farmacocinética única en animales, requiere una consideración cuidadosa para establecer puntos de corte clínicos apropiadamente, los cuales no pueden ser los mismos utilizados en humanos. El puntualizó que todos los puntos de corte actuales para medicina veterinaria pueden encontrarse en los documentos VET01S-Ed3 y VET03/VET04-S2 (únicamente aplicable para animales acuáticos) El acceso a puntos de corte específicos de especie son un componente clave de los fundamentos del uso “responsable” de antibióticos por los veterinarios ya que basarse en puntos de corte de humanos podría resultar en uso inapropiado, emergencia de resistencia y/o falla terapéutica.

El Dr. Tom Fritsche, de la clínica Marshfield en Wisconsin, relató su experiencia con la iniciativa Una salud – Un Laboratorio, en crear una entidad de laboratorio única para desarrollar test microbiológicos de laboratorio para humanos y animales, integrando espectrometría de masas y AST por microdilución en caldo para todas las muestras. Entrenamiento para el personal técnico, alianzas con patólogos veterinarios y un sistema de información de laboratorio común fueron factores claves en fortalecer las operaciones del laboratorio y mejorar la satisfacción del cliente. Los beneficios encontrados de esta aproximación a Una salud incluyen el reconocimiento de nuevos patógenos comunes a humanos y animales, y análisis comparativos de antibiogramas para detectar resistencia emergente en las dos poblaciones. El expositor final, Dr. Ron Miller, del centro para medicina veterinaria de la FDA, compartió una visión hacia el futuro comparando datos de secuenciación completa del genoma (WGS) con datos fenotípicos de CIM para bacterias clave transmitidas por alimentos. Se encontró una correlación excepcionalmente alta entre datos fenotípicos y datos genotípicos. El nuevo concepto de valor de corte genotípico (GCV) fue explorado como un equivalente para validez y confirmar análisis de distribuciones de CIM usadas para establecer valores de corte epidemiológicos (ECVs)¹.

Las presentaciones en conjunto suministraron información acerca de la coincidencia entre los sectores de laboratorio humano y animal y como el conocimiento y la cooperación puede beneficiar a la salud integral. Las diapositivas de este taller educacional pueden ser encontradas [aquí](#).

Referencia

- 1 Tyson GH, et al. Establishing genotypic cutoff values to measure antimicrobial resistance in *Salmonella*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(3): pii: e02140-16. PMID 27993845.

¿Que es la Antibiotic Resistance Laboratory Network (ARLN)?

En Agosto de 2016, los centros para control y prevención de enfermedades (CDC) lanzaron un nuevo esfuerzo significativo que impactará dramáticamente nuestro entendimiento del panorama de la resistencia antimicrobiana (AR) en los Estados Unidos. Esta nueva aventura, mostrará un nuevo camino para combatir la resistencia emergente y persistente en microorganismos clave, identificados como amenazas críticas de AR. La nueva red de laboratorios de resistencia antibiótica o ARLN es la base de grandes cosas por venir.

El CDC ha respondido a la **National Strategy for Combating Antibiotic-Resistant Bacteria**, lanzada en marzo de 2015, un plan nacional de acción respaldado por la casa blanca quien solicitó “ la creación de una red regional de laboratorios de salud pública”. La planeación estratégica del CDC y la rápida implementación de una red de laboratorios sencilla y robusta es ambiciosa y necesaria. Para permitir una respuesta más rápida a la identificación y control de brotes, esta red ofrece laboratorios de salud pública en todos los 50 estados y 5 ciudades, con recursos e infraestructura para fortalecer las conexiones con aliados de laboratorios clínicos y empezar a crear una capacidad de pruebas para Enterobacteriaceae resistentes a Carbapenems (CRE) y *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a Carbapenems (CRPA) aislados de sus jurisdicciones; en muchos casos esta capacidad no existía anteriormente. Este esfuerzo incluye desarrollar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, también como caracterizar mecanismos de resistencia tales como KPC, NDM y OXA-48 en Enterobacteriaceae y KPC, NDM, y VIM en *P. aeruginosa*.

Adicional a esta base sólida de 55 laboratorios estatales/locales, están los siete laboratorios de ARLN regionales. Estos laboratorios listados en el mapa reciben aislamientos referidos con resistencia nueva o inusual de laboratorios del estado dentro de su región. Ellos tienen la capacidad de llevar a cabo caracterización adicional y reconocer mecanismos de resistencia nuevos o emergentes, tales como *mcr-1* y detectar otros microorganismos difíciles de tratar como *Acinetobacter*. La meta de los laboratorios regionales es apoyar la detección rápida de los mecanismos de resistencia emergentes y actuales de una forma más efectiva, cerrando la brecha entre el tamizaje desde el Laboratorio hospitalario y la necesidad de información pertinente para guiar el control de infecciones y prevenir su diseminación en el entorno del cuidado. Por tanto, una responsabilidad de los laboratorios regionales es detectar brotes mediante hisopados rectales rápidos para bacterias productoras de carbapenemasas. Personal de control de infecciones de hospitales y otros centros, cuentan ahora con

un recurso para pruebas de laboratorio que se requieren para investigar posibles brotes de CRE y CRPA. Estas pruebas son rápidas y no requieren mas de 2 días pero sobre todo en el mismo día, así que las medidas de control pueden ser implementadas para detener la transmisión de CP-CRE y CP-CRPA.

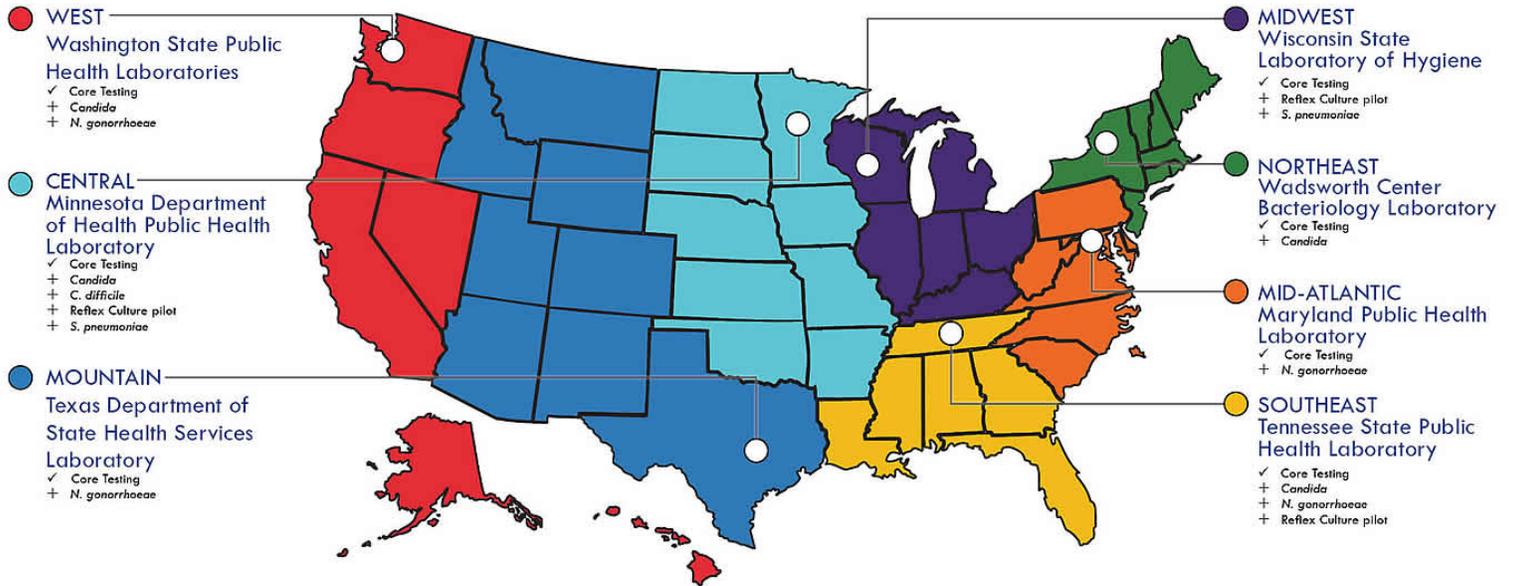
Laboratorios regionales seleccionados, llevan a cabo pruebas adicionales de resistencia para *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida species*, y *Streptococcus pneumoniae*. Comenzando en agosto de 2017, todos los laboratorios regionales caracterizarán ciertas especies de *Candida*, tales como *C. glabrata* que muestran patrones inusuales de resistencia (ej, resistencia a equinocandinas) y realizan esfuerzos para detectar y prevenir la emergencia de *Candida auris*¹. También en agosto de 2017, dos laboratorios fueron apoyados para realizar secuenciación del genoma completo para rastrear y detectar la emergencia de resistencia en *Mycobacterium tuberculosis*.

Los laboratorios de la ARLN también tienen como tarea, proveer comunicación consistente y substancial, coordinar y consultar el sistema de salud dentro de sus regiones acerca de pruebas de laboratorio y resistencia antimicrobiana. Ellos también ayudan al CDC a rastrear todos los microorganismos pertinentes detectados con la finalidad de ofrecer soluciones específicas. Un importante producto de este trabajo es el **FDA-CDC AR Isolate Bank**. Este repositorio continuará creciendo a través del envío de aislamientos de los laboratorios regionales de la ARLN, así que los investigadores y los desarrolladores de sistemas diagnósticos, fabricantes de drogas antimicrobianas y laboratorios clínicos tendrán patógenos bien caracterizados para apoyar su trabajo de combatir la resistencia antimicrobiana. En adición, como la red ARLN va madurando, los laboratorios proveerán el entrenamiento en AR para laboratorios estatales/locales y laboratorios clínicos.

Finalmente, es necesario que los laboratorios regionales de la red ARLN sean ágiles, no solo construyendo capacidad de detección y experiencia en CRE y CRPA, sino ser capaz de responder a las próxima “pesadilla de bacterias”, que acechan en los pasillos de las instituciones de salud. ¿Será otro mecanismo de resistencia como el *mcr-1*, o una levadura con resistencia emergente como *Candida auris*? Solo el tiempo lo dirá, pero con la capacidad y experiencia que esto traerá al futuro, habrá mas datos para tomar acciones, y detección mas rápida de amenazas emergentes llevando a una pronta implementación de medidas de control y creciente conocimiento de la AR, asegurando al final un público mas saludable. Mas información sobre la ARLN puede ser encontrada [aquí](#).

¿Que es la Antibiotic Resistance Laboratory Network (ARLN)? (Continuación)

CDC Antibiotic Resistance Laboratory Network: 7 Regional Labs



La red ARLN consiste en:

- Siete laboratorios regionales que realizarán pruebas para nuevas e inusuales amenazas de resistencia antimicrobiana y realizarán pruebas para colonización de CRE en tiempo real para respuesta a brotes.
- 55 laboratorios de salud publica locales y estatales que realizaran pruebas para CRE y CRPA.
- Laboratorios clinicos que contribuyen con cepas de AR de interés para laboratorios locales y estatales de la red ARLN.

¿Cómo se benefician los laboratorios clínicos de la ARLN?

- Se dispondrá de una red de laboratorios accesible donde pueden enviar aislamientos de CRE y de CRPA para la búsqueda de mecanismos de Resistencia y recibirán los resultados de forma oportuna.
- Tendrán expertos en resistencia antimicrobiana en su estado para consultarles preguntas sobre el tema.
- Dispondrán de un laboratorio en donde pueden realizar pruebas para detectar colonización por CRE y asistir al personal de control de infecciones en sus hospitales para investigar posibles brotes de CRE.
- Contribuirán y tendrán acceso a los reportes estatales, regionales y nacionales de resistencia antimicrobiana de los microorganismos de interés (CRE, CRPA, *Candida*, *S. pneumoniae*, etc.) que sean probados en los laboratorios de la red.

Referencia

1 Vallabhaneni S, et al. Epidemiology and risk factors for echinocandin nonsusceptible *Candida glabrata* bloodstream infections: data from a large multisite population-based candidemia surveillance program, 2008-2014. *Open Forum Infect Dis.* 2015;2(4):ofv163.

Un nuevo test fenotípico para la detección de carbapenemasas – The Modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM)

Varios métodos fenotípicos para la detección de carbapenemasas se encuentran descritos en el documento CLSI M100S 27th Ed, Tabla 3D. El más nuevo de estos es el método modificado de inactivación de Carbapenem o mCIM.¹

¿Cuándo se podría usar el mCIM?

Si hay la necesidad de saber si una Enterobacteriaceae resistente a carbapenems (CRE) es una productora de carbapenemasas, el mCIM es una opción. Recuerde que no es necesario hacer un test de carbapenemasas para reportar resultados de pacientes utilizando los puntos de corte CLSI vigentes para los carbapenems. Sin embargo, debido a que los genes que codifican para la producción de carbapenemasas se localizan generalmente en plásmidos altamente transmisibles, las CRE que son resistentes debido a este mecanismo versus mecanismos alternos (ej otras β-lactamasas y cambios en las porinas) son frecuentemente considerados una amenaza mayor para la transmisión entre pacientes. Consecuentemente un laboratorio puede ser requerido para determinar si una CRE produce carbapenemasas para control de infecciones o propósitos epidemiológicos.

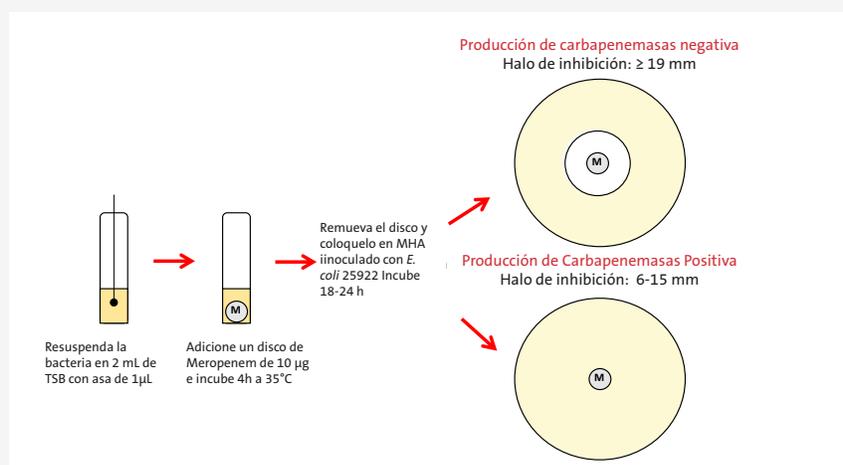
¿Cómo funciona el mCIM?

Cuando un disco de meropenem se coloca en una suspensión de bacteria productora de carbapenemasa y se incuba por algunas horas, el carbapenem en el disco será hidrolizado por la carbapenemasa. Cuando el disco es transferido a una placa que ha sido inoculada con una *E. coli* meropenem-susceptible y la placa es incubada durante la noche, no habrá zona de inhibición o habrá una muy pequeña alrededor del disco. En contraste si la bacteria no es un productor de carbapenemasas, el disco de meropenem retendrá su actividad y es capaz de inhibir el crecimiento de la *E. coli* evidenciado por una zona de inhibición alrededor.

¿Cómo se realiza actualmente el mCIM?

1. Una asada llena de 1-μL de la bacteria a estudiar de un cultivo fresco se transfiere a un tubo que contiene 2 mL of caldo tripticasa de soya (TSB) y la suspensión se mezcla en Vortex (Figura 1).
2. Un disco estándar de meropenem de 10-μg se adiciona a esta suspensión.
3. La suspensión de TSB y el disco, se incuba por 4 horas a 35°C en ambiente de aire.
4. Justo antes de completar el ciclo de 4 horas de incubación, se prepara una suspensión 0.5 McFarland de *E. coli* ATCC® 25922 y se inocula en una placa de agar Mueller Hinton (MHA) siguiendo el procedimiento para disco difusión como se describe en el CLSI M02.
5. Usando un asa de 10 μL, se remueve el disco del TSB, teniendo precaución en remover el exceso de líquido del disco.
6. El disco de meropenem, se coloca inmediatamente en la placa del MHA que ha sido inoculada con la *E. coli* ATCC® 25922.
7. La placa se incuba a 35°C en ambiente de aire.
8. Después de incubar 18-24h, se mide el halo de inhibición alrededor del disco de meropenem.
9. Los resultados se interpretan así: (ver Figura 2):
 Carbapenemasa positiva – Halo 6-15 mm o presencia de colonias dentro de un halo de 16-18 mm.
 Carbapenemasa negativa – Halo ≥ 19 mm.
 Indeterminado – Halo 16-18 mm (no se puede confirmar si el aislamiento es o no es productor de carbapenemasa)

Figura 1. Resumen del procedimiento del mCIM



Un nuevo test fenotípico para la detección de carbapenemasas (Continuación)

¿Que mas debemos saber del mCIM?

El test mCIM es fácil de realizar con un mínimo tiempo de montaje (< 5 min por aislamiento cuando se montan multiples aislamientos) y usa insumos del laboratorio que ya se encuentran disponibles. De hecho, hay varias ventajas del mCIM sobre otros test fenotípicos previamente descritos para detectar producción de carbapenemasas (ver tabla). El mCIM tiene > 99% de sensibilidad y > 99% de especificidad para la detección de Enterobacteriaceae productores de carbapenemasas. Para detalles adicionales para el montaje de mCIM (incluyendo control de calidad), por favor revise M100S 27th Ed.¹ Para resultados sobre el desempeño del mCIM como se demostró en un estudio multicéntrico controlado, por favor revise una publicación reciente.²

¿Se requiere una verificación antes de implementar el test mCIM?

Si, se requiere una verificación de al menos 30 aislamientos (15 carbapenemasa positiva, 15 carbapenemasa negativa) para determinar la exactitud y precisión de esta prueba en su laboratorio. Se pueden utilizar idealmente, aislamientos previamente caracterizados en su laboratorio (productores y no productores de carbapenemasas). Para laboratorios que no cuenten con estos aislamientos o que deseen contar con una mayor variabilidad en los mecanismos de resistencia a los carbapenems que los disponibles en su propio laboratorio, existe una fuente de aislamientos bien caracterizados incluidos en el “panel para la detección de carbapenemasas en Gram negativos” del [FDA-CDC Antimicrobial Resistance Isolate Bank](#).

¿Se puede emplear el mCIM para *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.*?

El mCIM ha mostrado ser confiable para la detectar producción de carbapenemasas en *P. aeruginosa* y se publicará una pequeña modificación al protocolo mencionado arriba para *P. aeruginosa* en M100S de 2018. Desafortunadamente el mCIM descrito aquí, no es confiable para detectar producción de carbapenemasas en *Acinetobacter baumannii* complex.

Puntos clave del mCIM:

- El mCIM es una nueva prueba fenotípica para detectar *Enterobacteriaceae* productoras de carbapenemasas y esta escrito en detalle en el CLSI M100S 27th ed.
- El mCIM usa reactivos ya disponibles en el laboratorio.
- Los resultados del mCIM estan disponibles en 24h, despues de su montaje desde colonias aisladas de bacterias sospechosas de producir carbapenemasas.
- El mCIM no es confiable para *Acinetobacter spp.*

Referencias

- 1 CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 27th ed. CLSI document M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
- 2 Pierce VM, et al. The modified carbapenem inactivation method (mCIM) for phenotypic detection of carbapenemase production among Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol*. 2017;Epub Apr 5.

Figura 2. mCIM positivo y negativo para la producción de carbapenemasas.



Halo 6 mm = positivo



Halo 22 mm = negativo

Un nuevo test fenotípico para la detección de carbapenemasas (Continuación)

Tabla. Comparación del Test de Hodge Modificado, el Carba NP y el mCIM

	Modified Hodge Test	Carba NP	mCIM
Reactivos	Usa reactivos ya disponibles en el laboratorio	Requiere reactivos especiales no usados de rutina en el laboratorio	Usa reactivos ya disponibles en el laboratorio
Costo de Materiales	<\$1 por prueba	\$2-10 por prueba	<\$1 por prueba
Tiempo de respuesta	24h Requiere incubación toda la noche.	2 horas	24h Requiere incubación toda la noche.
Interpretación	Interpretación subjetiva	Interpretación subjetiva	Interpretación subjetiva pero menos problemática
Fortalezas	Facil de montar	Resultados rápidos. Detecta carbapenemasas en <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , y <i>Acinetobacter</i>	Buena sensibilidad para la detección de carbapenemasas de las clases A, B y D de Ambler en <i>Enterobacteriaceae</i>
Limitaciones	Falsos positivos con algunos <i>Enterobacter spp</i> que poseen AmpC y alteraciones en las porinas. Falsos negativos con carbapenemasas NDM-1	Pobre sensibilidad para la detección de carbapenemasas OXA-48	Pobre sensibilidad y especificidad para carbapenemasas en <i>Acinetobacter</i>

Carbapenems y Enterobacteriaceae: ¿Cual es la diferencia entre CRE vs CP-CRE vs no-CP-CRE?

Hablar de “carbapenem resistant Enterobacteriaceae” (CRE) puede ser confuso, especialmente para laboratorios a los que se les solicita identificar el mecanismo de resistencia. Cuando quiere saberse si un carbapenem podría ser una opción terapéutica para un paciente, no es necesario conocer el mecanismo de resistencia y es suficiente reportar resultados de CIM o disco difusión usando los puntos de corte CLSI vigentes. Sin embargo, para propósitos epidemiológicos o control de infecciones, a los laboratorios se les puede solicitar que identifiquen el tipo de carbapenemasa producido por una CRE. Revise CLSI M100 Tablas 3A-3D¹ y también una publicación reciente² que trata estos temas. En la tabla abajo (modificada de la publicación) se resume la terminología incluyendo los acrónimos usados para describir mecanismos de resistencia a carbapenems que se pueden aplicar a *E. coli*, *Klebsiella spp*. Y otros miembros de la familia Enterobacteriaceae.

Organismo	Acrónimo	Definición	Identificación por el laboratorio	Mecanismo de resistencia a los carbapenems
Enterobacteriaceae resistente a carbapenems	CRE	Comprende organismos de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> que sean resistentes a carbapenems independientemente del mecanismo	Resultado “R” a carbapenems por disco difusión o CIM interpretado con los puntos de corte CLSI vigentes. ^a	Todos los mecanismos de resistencia a carbapenems (ej., producción de carbapenemasa O producción de AmpC o BLEEs con alteración en las porinas O bombas de expulsión)
Enterobacteriaceae productor de carbapenemasas	CP-CRE	Comprende organismos de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> que sean resistentes a carbapenems debido a la producción de una enzima carbapenemasa.	Resultado positivo de un test de carbapenemasas. ^b	Producción de carbapenemasas (ej., KPC, NDM, OXA-48)
Enterobacteriaceae carbapenem resistente no productor de carbapenemasas	No CP-CRE	Comprende organismos de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> que sean resistentes a carbapenems debido a mecanismos distintos a producción de carbapenemasas.	Resultado “R” a carbapenems por disco difusión o CIM interpretado con los puntos de corte CLSI vigentes Y un resultado negativo para test de carbapenemasas.	producción de AmpC o BLEEs con alteración en las porinas O bombas de expulsión.

^a “R” a ertapenem, doripenem, imipenem, y/o meropenem

^b Test de carbapenemasas incluyen: Test de Hodge modificado, Carba NP, mCIM, y ensayos moleculares.

Referencias

- 1 CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 27th ed. CLSI document M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
- 2 Gniadek TJ, et al. Carbapenem-resistant non-glucose-fermenting gram-negative bacilli: the missing piece to the puzzle. *J Clin Microbiol*. 2017;54:1700-10.

Nuevos desarrollos en pruebas de susceptibilidad antifúngica- Puntos de corte específicos para especies de *Candida* spp.

En noviembre de 2016, el ORWG presentó el webinar “Practical Recommendations for Antifungal Susceptibility Testing and Reporting in Clinical Laboratories: New Breakpoints, New Drugs, New Guidelines*”. Abajo encontrará lo mas relevante de este evento que puede acceder a través de los archivos de pasados webinars [aquí](#), bajo el nombre de microbiology webinars.

En el 2012, el subcomité de CLSI en pruebas de susceptibilidad antifúngica, publicó puntos de corte específicos de especie en el suplemento M27-S4.¹ Los nuevos puntos de corte, reemplazan a los existentes del M27-S3² que incluían todas las especies del género *Candida* (no diferenciaba entre especies). Revise la tabla abajo. Adicionalmente con el M27-S4 la categoría interpretativa “no susceptible” previamente asignada a las equinocandinas, fue eliminada. Finalmente, el M27-S4 eliminó los puntos de corte clínicos para itraconazol, para el cual fueron asignados valores de corte epidemiológicos (ECVs) que están listados en el M59 1st Ed.³ Actualmente hay datos insuficientes para establecer puntos de corte o ECVs para flucitosina.

Antifúngico	Obsoleto en M27-S3*	Vigente en M27-S4**
Equinocandinas		
anidulafungina	X	X
caspofungina	X	X
micafungina	X	X
Azoles		
fluconazol	X	X
itraconazol	X	
posaconazol		
voriconazol	X	X
Otros		
Flucitosina	X	

* Un set de puntos de core para todas las *Candida* spp. Agrupadas en conjunto

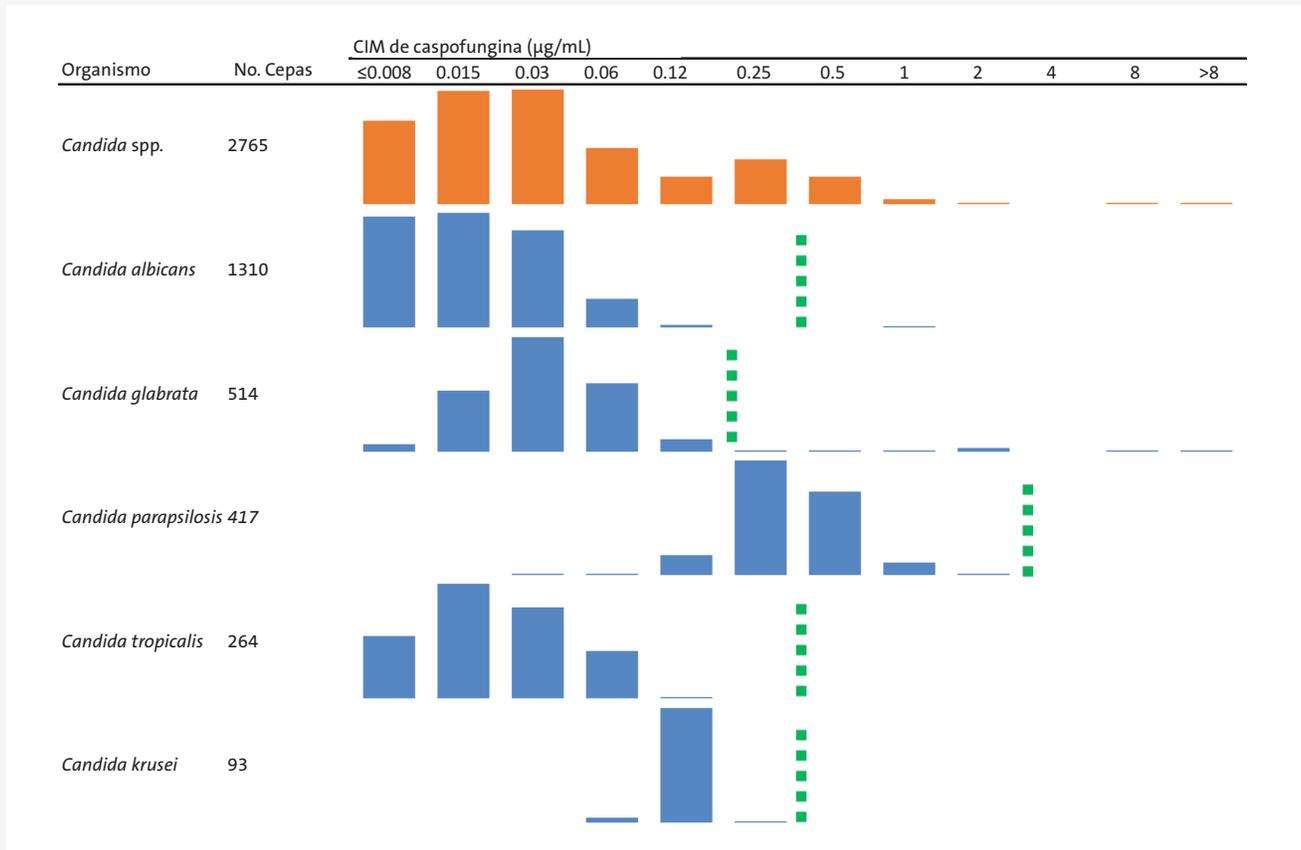
** Puntos de corte específicos para: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* y para *Candida guilliermon-dii* (Puntos de corte de equinocandinas unicamente)

Evidencia creciente de que las distribuciones de CIM para especies de *Candida* versus agentes antifúngicos pueden ser diferentes entre especies, ha contribuido a la asignación de puntos de corte específicos de especie. Esto se ilustra en la figura abajo, en donde las distribuciones de CIM para caspofungina se encuentran graficadas para todas las *Candida* spp tomadas en conjunto y para cinco especies listadas por separado, coleccionadas a nivel global entre 2014 y 2015 como parte del programa de vigilancia antifúngica SENTRY.⁴ Las distribuciones son marcadamente distintas para cada una de las cinco especies y sería difícil establecer un solo punto de corte que pudiera ser aplicado para todas las especies de *Candida*. Por ejemplo, *C. albicans* muestra una CIM modal de 0.015 µg/mL y *C. parapsilosis* muestra una CIM modal de 0.25µg/mL. Estas diferencias reflejan las CIM para las bacterias salvajes (sin mecanismos de Resistencia)

*Este webinar está en inglés solamente.

Nuevos desarrollos en pruebas de susceptibilidad antifúngica- Puntos de corte específicos para especies de *Candida spp.* (Continuación)

Figura. Distribuciones de CIM para caspofungina en *Candida spp.* e individualmente para 5 especies diferentes de *Candida*.*



* Los nuevos puntos de corte para sensibilidad se muestran en las barras verdes.

Usar un solo punto de corte para todas las especies de *Candida spp.*, no podría diferenciar aislamientos con y sin mecanismos de resistencia ya que estos se expresan de forma diferente entre las especies. Por ejemplo, aislamientos de *C. glabrata* que tengan mutaciones en el sitio activo de caspofungina, muestran valores de CIM tan bajos como 0.25 µg/mL y es improbable que estos aislamientos respondan a la terapia con caspofungina. Sin embargo, si uno estuviera usando los puntos de corte del M27-S3, muchos aislamientos de *C. glabrata* con mecanismos de resistencia serían caracterizados como sensibles a caspofungina (CIM ≤ 2 µg/ml era sensible). Los puntos de corte vigentes revisados (µg/ml) para caspofungina en *C. glabrata* son: ≤ 0.12 sensible; 0.25 intermedio; ≥ 0.5 resistente.

Las distribuciones de CIM de anidulafungina, micafungina y los azoles son similarmente distintas entre las cinco especies de *Candida*, y la aplicación de un solo punto de corte con estos agentes antifúngicos podría también impactar en la detección adecuada de la resistencia.

Las distribuciones de CIM, no son el único factor a considerar cuando se crean puntos de corte clínicos ya que datos PK/PD y datos de desenlace clínico también deben ser evaluados. El subcomité de pruebas de susceptibilidad antifúngica estudió los datos clínicos más recientes, datos de mutaciones de resistencia (ej, mutaciones *fks1/fks2* asociadas con resistencia a equinocandinas), y datos PK/PD como parte de la revisión de los puntos de corte antifúngicos. Por ejemplo, la literatura ha mostrado falla terapéutica asociada a mutaciones *fks1/fks2* para aislamientos de *Candida* para los cuales la CIM de caspofungina era baja con el punto de corte de sensible del M27-S3.⁵ Adicionalmente, nuevos datos PK/PD demostraron que la CIM más alta para la cual el blanco PD serían alcanzado es aproximadamente 0.25 µg/mL para anidulafungina, 1 µg/mL para caspofungina, y 0.5 µg/mL para micafungina usando las dosis actuales, los cuales son más bajos que el punto de corte antiguo del M27-S3 que era 2 µg/mL y que estaba asignado a todas las equinocandinas en todas las *Candida spp.*

Nuevos desarrollos en pruebas de susceptibilidad antifúngica- Puntos de corte específicos para especies de *Candida* spp. (Continuación)

A pesar de la racionalidad detrás de los nuevos puntos de corte, de acuerdo con las preguntas suplementarias de la prueba de proeficiencia antifúngica del colegio americano de patólogos (CAP), aproximadamente un tercio de los laboratorios continúan usando las guías obsoletas de M27-S3. Mientras una minoría (25/107; 23%) de estos laboratorios, dijeron usar las guías viejas del M27-S3 en conjunto con las guías actuales del M27-S4, la mayoría de estos laboratorios (82/107, 77%) reportaron solo usar las guías viejas. Es importante que los laboratorios dejen de usar las guías M27-S3.

Referencias

- 1 CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth Informational Supplement. CLSI document M27-S4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- 2 CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Third Informational Supplement. CLSI document M27-S3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- 3 CLSI. Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Tests; 1st edition. CLSI Supplement M59. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- 4 Castanheira M, et al. Monitoring antifungal resistance in a global collection of invasive yeasts and moulds: application of the recently published CLSI epidemiological cutoff values and whole genome sequencing analysis for detection of resistance mechanisms. Manuscript submitted.
- 5 Pfaller MA, et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: integration of molecular, clinical, and microbiological data to arrive at species-specific interpretive criteria. *Drug Resist Update*. 2011;14(3):164-176.

El acta de curas para el siglo 21 y el futuro de AST

Desafíos actuales:

En los últimos años, microbiólogos clínicos y médicos se han encontrado con escenarios frustrantes cuando realizan pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (AST) usando sistemas comerciales automatizados.

Desafío	Ejemplos
Retraso inexorable en el tiempo en que un punto de corte se actualiza por CLSI y el tiempo en que los sistemas automatizados son actualizados y aprobados por la FDA para el nuevo punto de corte.	<i>Enterobacteriaceae</i> con carbapenems, cefalosporinas (actualizadas por CLSI en 2010, sin embargo en muchos sistemas todavía no están aprobadas)
Nuevas drogas no disponibles en sistemas comerciales de susceptibilidad antimicrobiana más empleados en los laboratorios clínicos.	Ceftazidime-avibactam Ceftolozane-tazobactam
Inhabilidad para probar drogas en los sistemas automatizados de AST, para microorganismos que no tienen una indicación en el inserto del producto antibiótico pero que son clínicamente usadas para ese microorganismo.	Daptomicina en <i>E. faecium</i> Meropenem y <i>Acinetobacter spp.</i>
Carencia de algún test aprobado por la FDA para probar agentes antimicrobianos sin puntos de corte FDA.	Colistina

Muchos de estos desafíos son en parte relacionados con el hecho de que en Estados Unidos, dos organizaciones ponen puntos de corte: FDA y CLSI. Los puntos de corte FDA están listados en la información para prescribir (del inserto de la droga) , los cuales se pueden encontrar en: www.dailymed.nlm.nih.gov, mientras los puntos de corte CLSI están listados en: [CLSI's M100S document](#).

Por ley de USA, la FDA solo puede aprobar un sistema de AST que use puntos de corte FDA y únicamente para los microorganismos listados en el inserto del producto donde la droga tiene actividad *in vitro e in vivo* en infecciones clínicas. Esta última parte es de consideración importante ya que la FDA puede asignar puntos de corte para Enterobacteriaceae, pero si no se encuentran o son muy pocas las infecciones en los ensayos clínicos causadas por *Enterobacter aerogenes* (ej, el caso de ceftazidime-avibactam), un sistema comercial de AST no puede tener aprobación para esta especie particular. Estas restricciones han llevado a los desafíos listados en la tabla anterior y a mucha frustración para fabricantes de sistemas comerciales los cuales no pueden promocionar pruebas aunque sean analíticamente precisas, tengan un punto de corte de CLSI (o aun de FDA) y que sean críticas para el cuidado del paciente.

¡Las buenas noticias!

El acta de curas del siglo 21, el cuál pasó en noviembre de 2016, y fué asignado por ley del presidente Obama el 13 de diciembre de 2016, tiene el potencial de dar soluciones a estos desafíos (Sec. 3044). En particular, la sección 3044 del acta, incluye actualizaciones a la sección 511 del acto federal para medicamentos, alimentos y cosméticos (21 USC 360a), para permitirle a la FDA reconocer puntos de corte establecidos por organizaciones como CLSI que demuestren tener ciertos estándares para mitigar los conflictos de interés y mantener la transparencia en la toma de decisiones. Adicionalmente, los puntos de corte estarían en un listado en el website de la FDA y serían removidos de la información para prescribir de las drogas (en el inserto del producto). Los fabricantes de equipos diagnósticos pueden entonces someter datos a la FDA para tener su sistema aprobado usando los puntos de corte del nuevo website de la FDA. De forma importante esto permite un proceso agilizado para que la FDA reconozca puntos de corte establecidos por CLSI (u otra organización), y este website debe ser actualizado como mínimo cada 6 meses. Adicionalmente, esto le dará mas transparencia a cuáles puntos de corte deben ser usados por los fabricantes de equipos automatizados para aprobación de la FDA. Los fabricantes podrán solicitar aprobación FDA para drogas que ya no tengan actualmente puntos de corte FDA (ej colistina). Finalmente, porque los puntos de corte no estarán asociados con las “indicaciones de uso” listadas en el inserto del producto, muchos esperan que AST para microorganismo/antibiótico sin indicación de FDA podrían ser aprobadas por la FDA.

La línea de tiempo:

La línea de tiempo propuesta para estos cambios es rápida. La FDA debe establecer el nuevo website de puntos de corte en noviembre de 2017. Los fabricantes de drogas tendrán hasta noviembre de 2018 para borrar los puntos de corte de su información para prescribir. Si bien es promisorio, hay algunas preguntas por resolver incluyendo cuál organización de puntos de corte será reconocida por la FDA y que tan rápido los fabricantes de sistemas comerciales serán capaces de actualizar sus equipos. Si el retraso entre la actualización de la FDA para carbapenem y cefalosporinas en Enterobacteriaceae y los fabricantes de sistemas diagnósticos en actualizarlos en sus equipos es alguna indicación de producto, tomaría varios años antes de que estos cambios tengan un impacto positivo en el laboratorio clínico. En la otra cara, muchos fabricantes de sistemas automatizados tienen una presencia global y pueden ser capaces de rápidamente armar o someter datos suplementarios que eran enviados a agencias no americanas para aprobación en otros países, para sometimiento a la FDA.

El acta de curas del siglo 21 y el futuro de AST (Continuación)

...para encontrar los puntos de corte FDA actuales y las indicaciones clínicas listadas en la “información para prescribir”, (aquí inserto del producto), siga estas instrucciones:

1. Vaya a: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/>.
2. Digite el nombre de una droga y usted será dirigido hacia uno o más links a la información para prescribir de esa droga. Si su consulta no da resultados, intente usando el nombre comercial de la droga. Hay un link separado para cada fabricante de la droga. Esto significa que hay muchos links para drogas genéricas (ej ceftriaxone tiene 4 páginas de links). Seleccione cualquiera de esos para acceder a la información para prescribir. Ej. daptomicina.
3. Una vez adentro de la “información para prescribir”, busque la sección “farmacología clínica” y la sub sección “microbiología”. Desplazese dentro de esta subseccion para encontrar los puntos de corte y los rangos de control de calidad.
4. En “microbiología”, busque la subsección “actividad”, donde dice algo como “La droga X ha mostrado ser activa contra muchos aislamientos de los siguientes microorganismos tanto **in vitro como en infecciones clínicas**. “El fabricante de la droga tiene los datos clínicos para soportar desenlaces clínicos positivos para estas especies únicamente”. Para daptomicina en enterococos, usted verá *Enterococcus faecalis* (VSE únicamente) listado. Esto algunas veces se denomina como la lista “A”.
5. Y, entonces revise una segunda lista de microorganismos, presentados con algo como “al menos 90% de las siguientes bacterias exhiben una CIM **in vitro** menor o igual al punto de corte de susceptible para la droga X contra aislamientos de género similar o grupo de microorganismos. Sin embargo, la eficacia de la droga X para tratar infecciones clínicas debido a estas bacterias no ha sido establecida en ensayos clínicos bien controlados”. Para daptomicina en enterococos, usted vera *E. faecalis* (VRE) y *Enterococcus faecium* listados. Esto algunas veces se denomina la lista “B”.

Los fabricantes de sistemas comerciales pueden actualmente buscar aprobación de la FDA para microorganismos únicamente de la lista “A”.

Notas:

1. Para la mayoría de agentes antimicrobianos, hay multiples fabricantes de la droga y existe una “información para prescribir” para cada producto.
2. Algunos de estos fabricantes, han actualizado sus puntos de corte en la “información para prescribir” y otros no. La FDA les hace seguimiento a los que tienen los puntos de corte actualizados aquí.
3. Para muchos pacientes se prescriben drogas que no estan en la lista A o B. (fuera del inserto). Algunos estiman que un 40% de los pacientes críticos se les prescriben drogas “fuera del inserto” y los médicos buscan los resultados de AST para guiarse en la decisión de usar esos antibióticos.

Tema del momento

Carbapenemasas clase D (OXA): el talon de aquiles de los test de detección de carbapenemasas.

Los carbapenems juegan un rol esencial en el cuidado de la salud. Debido a su amplio espectro y estabilidad frente a las β -lactamasas, estos agentes son frecuentemente reservados para el tratamiento de microorganismos multi-resistentes en pacientes críticamente enfermos. Un mecanismo primario de resistencia a los carbapenems en bacterias Gram negativas es la producción de carbapenemasas-enzimas que confieren resistencia por hidrólisis de anillo betalactámico de las moléculas de carbapenem, dejándolos inactivos. Las carbapenemasas, pertenecen a uno de tres grupos basados en su estructura molecular. Las clases de Ambler A, B y D.^{1,2} Las enzimas de las clases A y D tienen residuos de serina en su sitio activo, mientras que la clase B requieren iones de zinc para su actividad. Históricamente las enzimas de clase D se pensaba que estaban restringidas a miembros del género *Acinetobacter*; sin embargo, es evidente que estas enzimas son una causa significativa de resistencia a carbapenems en otros generos incluyendo miembros de la familia Enterobacteriaceae.

Carbapenemasas clase D (OXA): el talon de aquiles de los test de detección de carbapenemasas. (Continuación)

Las primeras enzimas de clase D descritas, mostraban conferir resistencia penicilina y oxacilina (de allí el prefijo OXA) Subsecuentemente en los 80s, las enzimas OXA que hidrolizaban los carbapenems fueron descritas en especies de *Acinetobacter*, especialmente *Acinetobacter baumannii*. A inicios de los 2000s, una nueva enzima llamada OXA-48, fué aislada de una *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenem obtenida de un paciente en Istanbul, Turquía³ OXA-48 y sus variantes (colectivamente llamadas como β -lactamasas tipo OXA-48) encontradas en Enterobacteriaceae están listadas en la tabla 1. Estas β -lactamasas hidrolizan penicilinas de espectro reducido (Aminopenicilinas y ureidopenicilinas) y débilmente hidrolizan los carbapenems, pero no hidrolizan cefalosporinas de espectro extendido (ej. ceftriaxone, ceftazidime y cefepime) Y no son inhibidas por acido clavulánico o el quelante de metales EDTA. Sin embargo, en presencia de defectos de permeabilidad u otras β -lactamasas, las OXA-48 pueden conferir altos niveles de resistencia a carbapenems.⁴

Las β -lactamasas tipo OXA-48, se han diseminado en Enterobacteriaceae, incluyendo *K. pneumoniae* y *E. coli*. Ellas son endémicas en muchos países europeos y del norte de Africa. Brotes esporádicos de casos puntuales se han documentado en USA¹ pero dado su debil actividad contra los carbapenems, los cuales muchas veces resultan en CIMs o halos de inhibición en el rango de susceptible, su prevalencia en USA esta probablemente subestimada.

Puede ser difícil identificar bacterias que porten β -lactamasas tipo OXA-48 en aislamientos de Enterobacteriaceae cuando se utilizan sistemas de AST utilizados de rutina en los laboratorios clínicos. Actualmente los test recomendados por CLSI para la detección de carbapenemasas incluyendo el Test de Hodge Modificado, el Carba NP y el método modificado de inactivación del carbapenem (mCIM), que se basan en hidrólisis de carbapenem pueden ser falsamente negativos para aislamientos que producen β -lactamasas tipo OXA-48 (tabla 2).⁶⁻¹¹ En contraste, ensayos basados en acidos nucleicos dirigidos para genes de OXA-48 son generalmente confiables.¹² Sin embargo, algunos métodos moleculares comerciales o desarrollados en el laboraotrio pueden no detectar todos los genes de las β -lactamasas tipo OXA-48 debido a variaciones en las secuencias entre ellas.¹³ por tando la sensibilidad de los test basados en ácidos nucleicos podrían ser una limitación en el escenario de la epidemiología cambiante o la emergencia de nuevas enzimas. Finalmente, con el uso de ensayos dirigidos desde hemocultivos positivos, los laboratorios pueden enfretarse con la detección de una OXA-48 en un aislamiento de la familia *Enterobacteriaceae* sin resistencia fenotípica a los carbapenems. En estas situaciones CLSI recomienda que los laboratorios clínicos utilicen los puntos de corte vigentes de los carbapenems e interpretar los antibióticos como se obtienen en la prueba *in vitro* (ej, si el valor de la CIM corresponde a la interpretación de susceptible, reportarlo como tal).

Las β -lactamasas plasmídicas clase D de Ambler tipo OXA-48, han aparecido con una causa significativa de resistencia transferible a carbapenems en miembros de la familia Enterobacteriaceae y puede ser difícil de detectar utilizando los test de rutina para AST y los test fenotípicos para carbapenemasas. Si un aislamiento muestra un perfil de susceptibilidad a los betalactámicos de espectro reducido (ej, ampicilina, cefazolina) y muestra resultados intermedios o resistentes a los carbapenems (usando los puntos de corte CLSI vigentes), pero es sensible a cefalosporinas de espectro extendido (ej ceftriaxone, ceftazidime, cefepime) , debería ser considerado realizar un test fenotípico o molecular. Sin embargo, las limitaciones de los test fenotípicos en detectar OXA-48 debe tomarse en consideración. Idealmente se debería realizar un test molecular para la detección de β -lactamasas tipo OXA-48, particularmente si hay una evidencia de un potencial brote. Subsecuentemente, si un aislamiento es confirmado como productor de carbapenemasa usando un test fenotípico o molecular para el gen OXA-48, el laboratorio deberá seguir su protocolo para notificación al equipo de control de infecciones para ayudar a prevenir la transmisión de genes de resistencia significativa.

Tabla 1. β -lactamasas tipo OXA-48 encontradas en Enterobacteriaceae

OXA-48	OXA-244
OXA 162	OXA-245
*OXA-163	OXA-370
OXA-181	*OXA-405
OXA-204	OXA-436
OXA-232	OXA-484

* Carece de actividad hidrolítica significativa contra carbapenems, pero tiene actividad aumentada frente a cefalosporinas de espectro extendido comparada con otras β -lactamasas tipo OXA-48.

Adaptado de referencias 2 y 5.

Carbapenemasas clase D (OXA): el talon de aquiles de los test de detección de carbapenemasas. (Continuación)

Tabla 2. Sensibilidad diagnóstica de los test de detección de carbapenemasas recomendados por la CLSI para las enzimas de las clases A, B y D.

Clase Ambler (Carbapenemasa)	Sensibilidad Diagnóstica (%) ¹		
	THM	Carba NP	mCIM
A (KPC)	87.5 - 98	84 - 100	98 - 100
B (MBL)	12 - 94	94 - 100	98 - 100
D (tipo OXA-48)	93 - 100	38.5 - 86	85 - 100

¹Extraído de las referencias 6-12

Referencias

- Logan LJ, et al. The epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: the impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis.* 2017;215:528-36.
- Evans BA, et al. OXA β -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:241-63.
- Poirel L, et al. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:15-22.
- Potron A, et al. Genetic and biochemical characterisation of OXA-232, a carbapenem-hydrolysing class D β -lactamase from Enterobacteriaceae. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41:325-9.
- Findlay J, et al. Hopkins KL, Loy R, et al. OXA-48-like carbapenemases in the UK: an analysis of isolates and cases from 2007 to 2014. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72:1340-1349.
- Doyle D, et al. Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. *J Clin Microbiol.* 2012;50:3877-80.
- Osterblad M et al. Evaluation of the Carba NP test for carbapenemase detection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:7553-6.
- Simner PJ, et al. Evaluation of five chromogenic agar media and the Rosco Rapid Carb screen kit for detection and confirmation of carbapenemase production in Gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol.* 2015;53:105-12.
- Tljet N, et al. Detection of carbapenemase activity in Enterobacteriaceae: comparison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:274-6.
- Tamma PD, et al. Comparison of 11 phenotypic assays for accurate detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2017;55:1046-55.
- Pearce VM, et al. The modified carbapenem inactivation method (mCIM) for phenotypic detection of carbapenemase production among Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2017;doi:10.1128/JCM.00193-17.
- Dortet L, et al. Improvement of the Xpert Carba-R Kit for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60:3832-7.
- Hemarajata P, et al. Development of a novel real-time PCR assay with high-resolution melt analysis to detect and differentiate OXA-48-like β -lactamases in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents Chemother.* 2015;59:5574-80.

En memoria – Dr. Paul Schreckenberger

La comunidad de la microbiología clínica lamenta la pérdida de un legado extraordinario, en la repentina partida del Dr Paul Charles Schreckenberger, PhD D(ABMM) F(AAM), el 29 de noviembre de 2016. Sus contribuciones significativas lo hicieron un gigante en el campo de la microbiología.

Paul recibió su pregrado en ciencias de la Universidad del estado de Nueva York en Buffalo en 1970 y una maestría en ciencias de la Universidad de Minnesota en 1974. El se trasladó a Chicago y se convirtió en supervisor del laboratorio de bacteriología en el hospital de la Universidad de Illinois (UIC) en 1977 y completó su PhD en la UIC en 1989. Trabajó como director del laboratorio de microbiología de la UIC hasta que se retiró en 2005 y subsecuentemente se convirtió en el director del laboratorio de microbiología clínica y patología molecular y profesor de patología en el centro médico de la universidad de Loyola donde trabajó hasta su fallecimiento.

Durante su carrera de más de 40 años, sus contribuciones fueron inmensas. El fue uno de los desarrolladores de un sistema de identificación en el laboratorio para bacilos Gram negativos no fermentadores que aún tenemos en la actualidad. También fue el autor principal del atlas a color y texto de microbiología diagnóstica de Koneman y había terminado su 7ª edición en 2016, un logro que el tomaba con gran orgullo. Fue autor de numerosas publicaciones, abstracts y posters y fue un contributor líder de un estudio que retaba el concepto tradicional de que la orina era un fluido corporal estéril. Paul fue un speaker dinámico y cotizado a nivel mundial.

Paul participó en muchos comites asesores, todos buscaban en él una mirada hacia el futuro de la microbiología clínica. Fue un voluntario dedicado en el subcomité AST de CLSI por muchos años, en donde frecuentemente intervenía para asegurarse que el rol de la parte técnica desde lo básico era tenido en consideración en las decisiones del subcomité. En 2008, fue elegido fellow de la Academia Americana de Microbiología. En 2010 recibió el premio de la Sociedad de microbiología de Illinois en reconocimiento a sus valiosas contribuciones en el campo. Recibió tres premios como docente de patología de la universidad de Loyola.



Dr. Paul Schreckenberger

Paul fue un profesor apasionado, un mentor, un jefe, un investigador respetado, un líder, un amigo y un ser humano compasivo. Su intereses no tuvieron límites y desafiaba a cualquiera a un debate sobre historia, política, música (¡tocaba la guitarra y cantaba!) y mucho más. Disfrutaba los deportes y observó la victoria de sus amados Chicago Cubs en la serie mundial de 2016.

Paul será siempre recordado como un líder que impulsó la mejora de la microbiología clínica. Estuvo orgulloso de su laboratorio y de la profesión de la microbiología clínica, y sus contribuciones en el campo e impacto en las vidas de los pacientes es inmensurable. El espíritu de Paul, vivirá en cada una de las vidas que tocó. Será ampliamente extrañado. Paul vive en su esposa Ann y sus hijos, el Dr Adam Schreckenberger, y los más jóvenes Laura y Scott.

Agradecimientos.

Gracias a los miembros del CLSI ORWG y a las siguientes personas por sus contribuciones con este

Tom Fritsche
Peera Hemarajata
Ron A. Miller
Mark G. Papich

Tom Shryock
Patricia J. Simner
Paula M. Snippes Vagnone
Jeffrey L. Watts