

# **IDENTIFICACIÓN DE BACILOS NO FERMENTADORES Y PERFILES DE SENSIBILIDAD, EN LABORATORIOS DE MICROBIOLOGÍA DE MENOR COMPLEJIDAD.**

Ochoa, Andrea Daniela<sup>1</sup>

Ochoa, Sergio Alberto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>S.I.L. Servicio Integral de Laboratorio

Correspondencia: Sergio Alberto Ochoa, Italia 53, Villa Dolores, Córdoba.  
Teléfono: 03455-15571669, Dirección electrónica: [sa8avd@gmail.com](mailto:sa8avd@gmail.com)

## **RESUMEN**

**Introducción:** Los bacilos gram negativos no fermentadores (BNF), están frecuentemente implicados en infecciones graves, y actualmente suponen un trascendente problema de salud pública mundial. Las infecciones que causan tienen peor pronóstico que las debidas a otros patógenos frecuentes, por lo que es de gran importancia su correcta identificación y la evaluación de sus perfiles de sensibilidad.

El objetivo de este trabajo es el de comparar resultados de un conjunto de pruebas bioquímicas mínimas de identificación manual, accesibles de incorporar en un Laboratorio de Microbiología de menor complejidad, con el sistema de identificación API 20NE de Biomerieux, a los fines de una correcta interpretación e informe de perfiles de sensibilidad y mecanismos de resistencia a los antimicrobianos de cepas circulantes en nuestra población. Se estudiaron 30 cepas de BNF obtenidas de aislamientos clínicamente significativos del Laboratorio S.I.L. de Villa Dolores, Córdoba, pertenecientes a pacientes internados y ambulatorios durante el período de 2014-2015.

Fueron efectuadas un conjunto de pruebas bioquímicas seleccionadas y al mismo tiempo las cepas se identificaron mediante el sistema API 20NE – Biomerieux. Se realizaron estudios de sensibilidad a antimicrobianos y de mecanismos de resistencia. De las 30 cepas estudiadas, las técnicas manuales identificaron el 90% de los aislamientos y el sistema API 20NE el 93,3%. Un total de 22 cepas fueron multisensibles. Ocho cepas presentaron algún mecanismo de resistencia, lo que evidencia la circulación de estas cepas en nuestra población. Se concluye que en Servicios de menor complejidad la aplicación de un panel básico de pruebas bioquímicas permite la identificación con precisión de un elevado número de cepas, y en consecuencia la correcta elección metodológica para la realización de pruebas de sensibilidad a antimicrobianos y el estudio de mecanismos de resistencia.

## **PALABRAS CLAVES**

Bacilos gram negativos no fermentadores, pruebas de sensibilidad, antimicrobianos, pruebas de identificación.

## **INTRODUCCIÓN**

Los bacilos gram negativos no fermentadores (BNF) constituyen un amplio grupo de microorganismos (MO) que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Más de 120 especies han sido descritas, las cuales incluyen MO que producen una gran variedad de infecciones en el ser humano y además dificultades técnicas para su identificación e interpretación de pruebas de Sensibilidad (S) a los antimicrobianos (1). La multirresistencia (MR) a menudo asociada a estos gérmenes, su patrón de resistencia (R)

natural y la facilidad en adquirir diversos mecanismos de resistencia (MdR), hacen de este grupo de MO un capítulo particular de la microbiología (2).

De todas las especies incluidas, sólo unas pocas abarcan una parte importante y numerosa de las infecciones humanas, siendo las más frecuentes: *Pseudomonas aeruginosa*, el complejo *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Burkholderia cepacia*. (1-4)

Estas bacterias constituyen un verdadero desafío en cuanto a la terapéutica antimicrobiana a implementar en cada caso clínico principalmente en el ámbito intrahospitalario (5,6)

Para interpretar de manera correcta la S o R a determinados antimicrobianos y la presencia de ciertos MdR, es necesario primero contar con métodos que permitan orientar con precisión la identificación de la cepa en cuestión. Por otra parte, la evaluación de la S in vitro de ciertos antibióticos, es recomendada para utilizar tanto para fines terapéuticos como para fines identificatorios.

En numerosas ocasiones, la alternativa de tratamiento en infecciones por estas bacterias queda reducida al uso de carbapenemes (5), pero la adquisición de MdR a estos antibióticos es cada vez mayor y requiere de pruebas especiales para su detección.

En localidades con menor nivel de complejidad médica no es frecuente que se cuente con laboratorios de bacteriología que efectúen pruebas de tipificación y de sensibilidad más complejas. La utilización de grandes paneles de pruebas bioquímicas es complejo de sostener en correctas condiciones operativas y el acceso a sistemas comerciales, ya sea manuales o automatizados, es costoso. Sin embargo, se observa que cada vez más se trata de efectuar la contención médica y los tratamientos de los pacientes en sus respectivas localidades, evitando la derivación de los mismos a otras ciudades con niveles superiores de asistencia médica. En consecuencia, para poder efectuar una correcta interpretación de las pruebas de S, es necesario contar con una orientación precisa de cuál es la especie de BNF involucrada en un determinado proceso infeccioso.

El objetivo de este trabajo fue comparar los resultados de un conjunto de pruebas bioquímicas mínimas de identificación manual con el sistema de identificación de bacilos gram negativos no enterobacterias y no fastidiosos API 20NE de Biomerieux disponible en nuestro laboratorio, a los fines de una correcta interpretación e informe de los perfiles de sensibilidad y los MdRa los antimicrobianos de las cepas identificadas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS.**

Se realizó un estudio de tipo retrospectivo, observacional y descriptivo.

**Muestras:** Se estudiaron cepas de BNF obtenidas de aislamientos clínicamente significativos del cepario del Laboratorio S.I.L. de Villa Dolores, Córdoba, pertenecientes a pacientes internados y ambulatorios estudiados durante un período entre los años 2014-

2015. Se seleccionaron las cepas aisladas en materiales clínicos de pacientes ambulatorios que concurren al laboratorio, y de pacientes internados en centros de salud que derivan sus muestras, como el Hospital de Villa Dolores.

**Métodos:** Las cepas se conservaron en caldo glicerol a  $-20^{\circ}\text{C}$ , por duplicado, y fueron recuperadas por calentamiento gradual a  $T^{\circ}$  ambiente y  $T^{\circ}$  de estufa de cultivo a  $35^{\circ}\text{C}$  durante 4 hs y aisladas nuevamente en medio sólido utilizando agar sangre de carnero.

Colonias únicas fueron repicadas en agar Tryptona Soya, y a partir de cultivos de hasta 48 hs. fueron efectuadas un conjunto seleccionado y mínimo de pruebas bioquímicas manuales que a continuación se detallan: agar hierro triple azúcar (TSI), oxidasa (Ox), movilidad (Mov), oxidación/fermentación de glucosa en O-F medio basal de Hugh&Leifson (OF/G), crecimiento a  $42^{\circ}\text{C}$ , producción de pigmento (Pig), arginina dehidrolasa (Adh), lisina decarboxilasa (Lis), enzimas desoxirribonucleasas (DNAsa), hidrólisis de esculina (Esc), producción de ácido a partir de maltosa (Mal) y manitol (Man). Las pruebas fueron efectuadas tomando como referencia principal los algoritmos e indicaciones técnicas recomendadas en el manual de bacilos gram negativos no fermentadores de glucosa de los Dres. Carlos Vay y Angela Famiglietti (7) y en las guías de Identificación de bacilos gram negativos no fermentadores, del INEI-Malbrán (8).

Las cepas también fueron identificadas mediante el sistema manual, API 20NE – Biomerieux, siguiendo las instrucciones del fabricante (9). Este método comercial, manual, consiste en una galería de pruebas bioquímicas, de lectura directa e indirecta, de rápida manipulación manual, y que basa su sistema de interpretación en algoritmos vinculados a una base de datos. Las pruebas bioquímicas que se efectúan son: reducción de nitratos a nitritos o nitrógeno, formación de indol, fermentación de glucosa, arginina dehidrolasa, presencia de ureasa, hidrólisis de esculina, hidrólisis de gelatina,  $\beta$ -galactosidasa, oxidasa. Además evalúa la asimilación de D-glucosa, L-arabinosa, D-manosa, D-manitol, N-acetilglucosamina, D-maltosa, gluconato potásico, ácido cáprico, ácido adípico, ácido málico, ácido fenilacético, citrato trisódico.

Aquellas cepas que por uno o ambos métodos arrojaron un resultado inconcluso o no fueron correctamente identificadas, se identificaron y se realizaron pruebas de S por el sistema automatizado VITEK2.

En las pruebas de S a antimicrobianos se utilizaron discos comerciales (Britania) de los siguientes antimicrobianos: ceftazidima, cefepime, piperacilina/tazobactam, imipenem, meropenem, aztreonam, amicacina, gentamicina, ciprofloxacina, trimetoprima-sulfametoxazol, colistina, minociclina, ampicilina/sulbactam, levofloxacina; y fueron efectuadas por el método de difusión en agar Mueller Hinton de acuerdo a las Instrucciones especificadas en las Normas CLSI 2016 (10) e interpretadas según las recomendaciones del Protocolo Whonet 2017 (11). Las pruebas que se realizaron para el estudio de MdR fueron:

Screening y prueba confirmatoria para la búsqueda de beta lactamasas de espectro extendido (BLEE), y la búsqueda de carbapenemasas mediante inhibición con discos de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y de ácido borónico. Se realizó además el test de Hodge mejorado, según las recomendaciones del Algoritmo 2017 de carbapenemasas para *Pseudomonas aeruginosa* del Servicio de Antimicrobianos INEI-ANLIS “Dr. Carlos Malbrán” (11,12). Se realizó el test de Hodge mejorado para detección de carbapenemasas, el cual permite detectar la presencia de enzimas con actividad de carbapenemasas, pero no discrimina entre Serino-carbapenemasas y Metalobetalactamasas. Esta técnica es de baja complejidad y presenta moderada sensibilidad (13,14).

## RESULTADOS.

Se estudiaron un total de 30 cepas de BNF. Los resultados de las pruebas de identificación por técnicas manuales y API 20NE se describen en la Tabla 1 y los porcentajes de cepas identificadas por cada metodología se especifican en la Tabla 2. El origen de las mismas se detalla en la Tabla 3.

**Tabla 1: Resultados de pruebas bioquímicas manuales, Api 20NE e identificación**

Nº	Pruebas Bioquímicas												Identificación Pruebas Manuales	Identificación por API 20NE
	TSI	Ox.	Mov.	OF/G	42°C	Pig	Adh	Lis	Mal	DNAsa	Esc	Man		
1	AI/N	-	-	+/-	nr	-	-	-	-	-	-	+	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
2	N/N	-	-	+/-	nr	-	-	+	+	+	+	-	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>
3	N/N	-	-	+/-	nr	-	-	+	+	+	+	-	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>
4	N/N	-	-	+/-	nr	-	-	+	+	+	+	-	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>
5	N/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
6	AI/AI	-	-	-/-	nr	-	-	-	-	-	-	-	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
7	N/N	-	-	+/-	nr	-	-	+	+	+	+	-	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>
8	AI/N	-	-	+/-	nr	-	-	-	-	-	-	-	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
9	AI/AI	-	-	-/-	nr	-	-	-	-	-	-	-	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
10	N/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
11	AI/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
12	N/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
13	N/N	-	-	+/-	nr	-	-	+	+	+	+	-	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>
14	N/N	-	-	+/-	nr	-	-	+	+	+	+	-	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>
15	N/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
16	AI/N	+	+	+/-	+	-	+	-	nr	nr	nr	nr	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
17	AI/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i>

														<i>aeruginosa</i>	<i>aeruginosa</i>
18	N/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
19	N/N	+	+	+/-	+	M	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
20	N/N	+	+	+/-	-	-	+	-	nr	nr	nr	nr	Cepa no identificada	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
21	N/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
22	Al/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
23	Al/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
24	N/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
25	N/N	+	+	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
26	Al/N	+	-	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
27	Al/N	-	-	+/-	-	-	-	+	-	-	-	-	Cepa no identificada	Cepa no identificada	Cepa no identificada
28	N/N	+	+	+/-	-	-	-	+	+	-	-	-	Cepa no identificada	Cepa no identificada	Cepa no identificada
29	N/N	+	-	+/-	+	V	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
30	N/N	+	-	+/-	+	M	+	-	nr	nr	nr	nr		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Referencias: TSI= agar TSI; Ox= prueba de oxidasa; Mov: movilidad en agar blando; OF/G= oxidación; fermentación de glucosa en O-F medio basal de Hugh&Leifson; 42°C= crecimiento a 42°C; Pig= producción de pigmento; Adh= arginina dehidrolasa; Lis= lisina decarboxilasa; Mal= ácido a partir de maltosa; DNAsa= presencia de enzimas desoxirribonucleasas; Esc= hidrólisis de la esculina; Man= ácido a partir de manitol; Al/N= alcalino /neutro; Al/Al= alcalino/alcalino; N/N= neutro/neutro; *S.maltophilia*= *Stenotrophomonas maltophilia*; V=verde; M= marrón; nr= no realizada.

Las cepas 20, 27 y 28 que no pudieron ser identificadas con certeza, con uno o ambos métodos, fueron evaluadas con el sistema VITEK2, el cual dio resultados con alto nivel de confiabilidad. La cepa 20 fue identificada como *Pseudomonas fluorescens*, la 27 como *Acinetobacter baumannii*, y la 28 como *Ralstonia piketti*

**Tabla 2: Porcentajes de identificación de los sistemas de tipificación.**

Métodos	N° de Cepas estudiadas	N° Cepas identificadas	N° Cepas no identificadas	% de identificación
Pruebas manuales	30	27	3	90,0
API 20NE	30	28	2	93,3

**Tabla 3: Origen clínico de las cepas identificadas.**

Cepas	Material Clínico de origen								
	Aspirado Traqueal	Espuito	Hemocultivo.	Hemocultivo y Retrocultivo.	Herida Quirúrgica	Líquido de Punción	Orina (Chorro medio)	Orina-Sonda	TOTAL
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	1	2				1		6
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>	3								3
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	1					1			2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		2				9	5	1	17
<i>Pseudomonas fluorescens</i>					1				1
<i>Ralstonia piketti</i>				1					1
<b>Total</b>	<b>6</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>30</b>

Los resultados de las pruebas de S y MdR para las cepas identificadas como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* se encuentran en las Tablas 4 y 5.

**Tabla 4: Resultados de pruebas de S y MdR en *Pseudomonas aeruginosa*.**

Cepa	Antibióticos										Pruebas para MdR		
	N°	MER	IMI	CAZ	FEP	CIP	PIP-TAZ	AZT	AMK	GEN	ΔCAZ/CAZ-CLA	Sinergia EDTA	THT
<b>5</b>	R	I	R	S	R	I	S	I	R		Negativo	Negativo	
<b>10</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>11</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>12</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>15</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>16</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>17</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>18</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>19</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>21</b>	S	S	S	S	R	S	S	S	S		NR	NR	
<b>22</b>	S	S	R	S	S	S	S	S	S		Negativo	NR	
<b>23</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>24</b>	S	S	R	S	R	S	S	R	R		Negativo	NR	
<b>25</b>	S	R	R	S	S	R	S	R	R		Negativo	Negativo	
<b>26</b>	R	I	R	R	R	R	S	S	R		Negativo	Positiva	
<b>29</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	
<b>30</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S		NR	NR	

Referencias: S= sensible; R= resistente; I= intermedio; NR= no realizado; MER=meropenem; IMI=imipenem; CAZ=ceftazidima; FEP=cefepime; CIP=ciprofloxacina; PIP-TAZ=piperacilina-tazobactam; AZT=aztreonam; AMK=amicacina; GEN=gentamicina; CAZ-CLA=ceftazidima-acido clavulánico; EDTA=ácido etilendiaminotetraacético; THT=test de Hodge modificado.

**Tabla 5: Resultados de pruebas de S y MdR en *Acinetobacter baumannii*.**

N°	Antibióticos												Pruebas para MdR			
	MER	IMI	CAZ	FEP	CIP	PIP-TAZ	MIN	AMK	GEN	AMS	TMS	COL	ΔCAZ/CAZ-CLA	Sinergia EDTA	Sinergia AC.BOR	THT
1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NR	Neg	NR	NR	NR
8	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NR	Neg	NR	NR	NR
27*	R	R	R	R	R	R	S**	S	R	R	R	S	Neg	Neg	Neg	Pos

Referencias: S= sensible; R= resistente; I= intermedio; NR= no realizado; MER=meropenem; IMI=imipenem; CAZ=ceftazidima; FEP=cefepime; CIP=ciprofloxacina; PIP-TAZ=piperacilina-tazobactam; MIN=minociclina; AMK=amicacina; GEN=gentamicina; AMS=ampicilina-sulbactama; TMS=trimetoprima-sulfametoxazol; COL= colistina; CAZ-CLA=ceftazidima-acidoclavulánico; EDTA=ácido etilendiaminotetraacético; AC.BOR=ácido borónico; THT=test de Hodge modificado; Neg= negativo; Pos= Positivo; \*Resultados de concentración inhibitoria mínima (CIM) obtenidos por VITEK2; \*\*Resultado obtenido por método de difusión.

De las 17 cepas identificadas como *Pseudomonas aeruginosa*, 11 (64,7%) fueron sensibles a todos los antibióticos. Cinco cepas presentaron R a Ceftazidima (30 ug) y un delta entre Ceftazidima-Clavulánico / Ceftazidima (30ug/10ug) <= a 5 mm, lo cual indica ausencia de betalactamasa de espectro extendido (BLEE)(15). De éstas, 3 cepas presentaron halos de Meropenem (10 ug) <= 23mm y Ceftazidima (30 ug) <=22 mm por lo que se investigó carbapenemasas, arrojando resultados negativos para sinergia con EDTA y test de Hodge mejorado en dos cepas; y resultados positivos en una de ellas, lo que indica la presencia de una posible Metalobetalactamasa.(14,16).

Tres cepas fueron identificadas como *Acinetobacter baumannii*, de las cuales 2 fueron multisensibles. Una cepa aislada de un aspirado traqueal estudiada por VITEK2 arrojó la interpretación adicional de cepa R a carbapenemes por impermeabilidad, carbapenemasa metalo u oxacilinas, siendo R a todos los antibióticos ensayados, excepto amikacina y colistina, y minociclina que fue testada por método de difusión. Se realizó sinergia con ácido borónico (300 ug) y EDTA (1umol) y ambos dieron resultados negativos. Se efectuó además el test de Hodge mejorado arrojando un resultado positivo lo que nos lleva a presumir la presencia de una carbapenemasa (2,17)

Las dos cepas identificadas como *Acinetobacter lwoffii* fueron multisensibles a los antibióticos recomendados por protocolo (9).

Seis cepas identificadas como *Stenotrophomonas maltophilia* fueron multisensibles para los antibióticos: minociclina (30ug), levofloxacina (5ug) y trimetoprima-sulfametoxazol (1,25/23,7 ug).

Las cepas identificadas como *Pseudomonas fluorescens* y *Ralstonia picketti* fueron multisensibles por VITEK2, con valores de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) intermedio para ceftazidima en *Ralstonia picketti*.

## **DISCUSIÓN**

En el sistema sanitario actual, y sobre todo en localidades con un nivel de complejidad médica limitada, la atención de pacientes con procesos infecciosos por BNF suele presentarse como situaciones críticas que requieren mayores procedimientos invasivos para el diagnóstico y tratamientos con certeza. En este sentido, el rol del laboratorio de Microbiología es muy importante no sólo en la realización de procedimientos correctos de identificación y el estudio de la S a antimicrobianos de estas cepas, sino también en la comunicación directa con los profesionales médicos actuantes, a los fines de contribuir y participar en la toma de decisiones terapéuticas que éstos definen.

De las 30 cepas estudiadas, 3 no fueron correctamente identificadas por pruebas manuales, de las cuales dos tampoco fueron identificadas por API 20NE, y sí fueron identificadas con alto nivel de confiabilidad por VITEK2.

Si bien el número de cepas estudiadas es bajo, los resultados observados muestran que las técnicas manuales, accesibles a laboratorios de microbiología de menor complejidad, permiten identificar con buena precisión a los BNF más frecuentemente aislados, y en consecuencia lograr una correcta interpretación de las pruebas de S a los antimicrobianos y detección de MdR. Las técnicas manuales identificaron el 90,0% de los aislamientos y el sistema manual API 20NE el 93,3%, el cual también es una alternativa accesible para facilitar las pruebas de identificación en los laboratorios de menos complejidad.

Un total de 22 cepas fueron multisensibles, pero hubo un total de 8 cepas que presentaron R a uno o más antibióticos, y de éstas 6 requirieron estudios adicionales para BLEE y/o carbapenemasas.

Si bien sería importante poder efectuar esta evaluación con un número importante de cepas, consideramos que en este trabajo se evidencia la necesidad que en pequeños y medianos laboratorios de Microbiología se cuente con un panel básico de pruebas bioquímicas que permitan orientar la identificación de estas bacterias, y efectuar una correcta interpretación de las pruebas de S a los antimicrobianos. Los MdR presentes en estas cepas son de extrema complejidad, llegando a casos en los que prácticamente no quedan alternativas terapéuticas. Por este motivo es que implementar estas pruebas es necesario para la precoz aplicación de correctos esquemas terapéuticos y reducción de la elevada mortalidad asociada a este tipo de pacientes.

## **BILBIOGRAFÍA**

1. Soloaga R, Gutkind G, Radice M, Marín M, Giovanakis M, Vay C, Almuzara M, Limansky A, Casellas JM, Famiglietti A, Quinteros M, Bantar C, Galas M, Kovensky PJ, Nicola F, Pasterán F. Criterios de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos en los bacilos gram negativos no fermentadores de importancia clínica:

- recomendaciones de la Subcomisión de Antimicrobianos de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínica, Asociación Argentina de Microbiología. *Revista Argentina de Microbiología*, 2011; 43:136-53.
2. Perez F, Hujer AM, Hujer KM, Decker BK, Rather PN, Bonomo RA. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 3471-84.
  3. Torres AH, Vázquez EG, Martínez JH, Gómez JG. Infecciones por bacilos gramnegativos no fermentadores: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter sp.* y *Stenotrophomonas maltophilia*. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 2014; 11: 3311-6.
  4. Carmeli Y, Akova M, Cornaglia G, Daikos GL, Garau J, Harbarth S, Rossolini GM, Souli M, Giamarellou H. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gramnegatives. *Journal Compilation, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2010; 102–11.
  5. Fariñas MC, Martínez Martínez L. Infecciones causadas por bacterias gram negativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2013;31:402-9.
  6. Henry DA, Speert DP. *Pseudomonas*. In: Versalovic J. *Manual of Clinical Microbiology*, 10th edition, Vol1. ASM Press 1752 N St. NW, Washington, DC20036-2904,USA.2011;40:677-91.
  7. Vay CA, Famiglietti A. *Guía de Identificación de Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa*. Universidad de Buenos Aires; 2010.
  8. *Guía del Curso teórico práctico Identificación de Bacilos Gram Negativos No Fermentadores*. Servicio de Bacteriología especial, INEI-ANLIS Dr. Carlos Malbrán. Septiembre 2010.
  9. Api 20NE. Instrucciones para el sistema de identificación de bacilos gram negativos no enterobacterias–no fermentadores de Biomerieux. En: <http://faculty.fiu.edu/~makemson/MCB3020Lab/API20neInstructions.pdf>; consultado el 03/11/16.
  10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 27th ed. CLSI supplement M100S. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
  11. *Protocolo de Trabajo Red Whonet Argentina acordado en el “XVII Taller Whonet-Argentina”* <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2014/10/Protocolo-whonet-consensuado-2017-final.pdf>; consultado el 25/02/17.

12. Sadebac-aam. Subcomisión de antimicrobianos. Caracterización fenotípica de la resistencia a los B-lactámicos en *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.* Año 2009
13. Pasteran F. y cols. Triton Hodge Test, detección de carbapenemasas mediante test de Hodge mejorado. Protocolo del Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS “Dr. Carlos Malbrán”. 2016. Versión 1;1-5.
14. Pasteran F, Veliz O, Rapoport M, Guerriero L, Corso A. Sensitive and Specific Modified Hodge Test for KPC and Metallo-Beta-Lactamase Detection in *Pseudomonas aeruginosa* by Use of a Novel Indicator Strain, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. *Journal of Clinical Microbiology* 2011;49: 4301–3.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. January 2012.
16. Mena JA, Minoli MJ, Garutti AB, Aiassa MS. Búsqueda de KPC y Metalloβlactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en el Hospital Córdoba. En:<http://www.cobico.com.ar/actividad-cientifica/publicaciones/busqueda-de-kpc-y-metallo%CE%B2lactamasas-en-pseudomonas-aeruginosa-aisladas-en-el-hospital-cordoba-8626>; consultado el 07/01/17
17. Vanegas Múnica J, Roncancio Villamil G, Jiménez Quiceno JN. *Acinetobacter baumannii*: Clinical importance, resistance mechanisms and diagnosis. *CES Medicina*, 2014; 28:233-46.