

## SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA *in vitro* PARA *Neisseria gonorrhoeae* POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)

**MET-CNSP-042**


**Elaborado por :** CNSP Blga. Ana Jorge Berrocal

**Revisado por :** CNSP Blgo. José Luis Portilla Carbajal.  
CNSP Blga. Gabriela Salinas Coronel.

**Aprobado por:** CNSP Méd. Luis Alberto Vergara Fernández.


RD N° 056 -2016-DG-CNSP/INS

Fecha: 06 / 04 / 2016

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
1. ÁMBITO DE APLICACIÓN	3
2. REFERENCIAS	3
3. DEFINICIONES OPERATIVAS	3
4. FUNDAMENTO DEL MÉTODO	4
5. DESARROLLO DEL MÉTODO DE ENSAYO	4
6. CÁLCULOS	10
7. INFORME DE RESULTADOS	10
8. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	11
9. FORMULARIOS	12

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

## 1. ÁMBITO DE APLICACIÓN


El método de ensayo se aplica a cepas identificadas de *Neisseria gonorrhoeae* ingresadas al Laboratorio de Bacterias de Transmisión Sexual del CNSP/INS.

## 2. REFERENCIAS

- 2.1 Jo-Anne R. Dillon and H. Li. A Laboratory course manual: Identification and antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*. Third Edition. Printed by WHO/PAHO Coordinating Centre for Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programs in the Americas and the Caribbean. University of Ottawa-Canada.1996.
- 2.2 The United States Pharmacopeia USP 23. The National Formulary N°18 .1995.
- 2.3 National Committee for Clinical Laboratory Standers (NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Ninth Information Supplement. Volume 19 Number 1. January 1999.
- 2.4 National Committee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard. Fifth Edition, Vol. 20 Number2. January 2000.
- 2.5 Clinical and Laboratory Standars Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-fifht Informational Supplement.January 2015.
- 2.6 Mehaffey-P-C. Putnam-S-D. Barrett-M-S Jones-R-N. Evaluation of *in vitro* spectra of activity of azithromycin, clarythromycin, and erythromycin tested against strains of *Neisseria gonorrhoeae* by reference agar dilution, disk diffusion, and Etest methods. J-Clin-Microbiol. 1996 Feb. 34(2).P 478-81. 4.13
- 2.7 Laboratorio de Referencia *Neisseria*. Instituto de Salud Pública de Chile. Taller “Vigilancia de *Neisseria gonorrhoeae* Identificación y susceptibilidad”. Programa de control de calidad OPS/OMS. Santiago de Chile, 21 – 23 de noviembre de 2005.

## 3. DEFINICIONES OPERATIVAS

- 3.1 **Aislamiento del agente infeccioso:** Es la obtención del agente infeccioso en cultivo puro, libre de microorganismos contaminantes.
- 3.2 **Bacteria:** Microorganismo perteneciente al reino protista.
- 3.3 **Cepa bacteriana:** Cultivo identificado de acuerdo al sistema taxonómico.
- 3.4 **Colonia bacteriana:** Población de bacterias que se desarrollan en la superficie de medios de cultivo sólidos, a la mayoría se les observa a simple vista.

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

3.5 **Cultivo bacteriano:** Proceso mediante el cual se pretende obtener el desarrollo de bacterias que tengan en común las mismas características.

#### 4. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO

La prueba de Concentración Mínima Inhibitoria (**CIM**) consiste en determinar la concentración antibiótica mínima, en placa, capaz de inhibir completamente el desarrollo de la bacteria en estudio. No se considera el desarrollo de una colonia o la formación de una capa tenue.

#### 5. DESARROLLO DEL MÉTODO DE ENSAYO

##### 5.1 Aspectos de Bioseguridad

La prueba que realiza el Laboratorio de Bacterias de Transmisión Sexual corresponde a Nivel de Bioseguridad 2 por lo que el personal debe usar el EPP adecuado que consta de: Mandil, mascarilla, gorro y guantes. Así mismo se aplican medidas generales de bioseguridad, según el documento Bioseguridad en Laboratorio de ensayo, biomédicos y clínicos-Manual de Procedimientos-Serie de Normas Técnicas N°18. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.

##### 5.2 Tipo de muestra


Cepas de *Neisseria gonorrhoeae* identificadas y crioconservadas a -70°C.

##### 5.3 Equipos

- pHmetro
- Estufa 35-37°C
- Pipeteador eléctrico
- Replicador bacteriológico de Steer
- Estándar Mc Farland 0.5
- Cabina de flujo laminar
- Cámara cuenta colonias

##### 5.4 Insumos y reactivos

- Agar GC Medio Base.
- Agar bacteriológico.
- Suplemento enriquecedor Isovitalex.
- Caldo Mueller-Hinton.
- Antibióticos de pureza y potencia conocida: Penicilina, espectinomina, tetraciclina, Ceftriaxona, Cefixima, ciprofloxacina y azitromicina.
- Cepas *N. gonorrhoeae*, (cultivos jóvenes de 18-24 horas de incubación).

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

- Cepas estándar: *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226, WHO III, WHO V, WHO VII.
- Buffer salino pH 6.0- 7.5.
- Ácido Clorhídrico 0.1 M.
- Hidróxido de sodio 0.1 M.
- Agua des-ionizada o bidestilada.
- Placas petri 10x100 mm.
- Tubos de ensayo de vidrio c/tapa rosca 13x100 mm.
- Tubos de ensayo de vidrio 20x150mm.
- Tarjeta de Wickerham.

## 5.5 Ejecución del método

### 5.5.1 Condiciones previas (preparación de muestras y reactivos)

#### 5.5.1.1 Preparación de soluciones stock de antibióticos

Se prepara a una concentración establecida, lo cual depende de cada antibiótico que se va a utilizar. La solución stock se utiliza para preparar soluciones antibióticas a diferentes concentraciones que deben estar contenidas, individualmente, en placas con medio de cultivo-antibiótico.


Para calcular la concentración antibiótica de cada solución stock, se consigue utilizando una de las siguientes fórmulas:

$$\text{Peso (mg)} = \frac{\text{Volumen (mL)} \times \text{Concentración } (\mu\text{g/mL})}{\text{Potencia del antibiótico } (\mu\text{g/mg)}}$$

ó

$$\text{Volumen (mL)} = \frac{\text{Peso (mg)} \times \text{Potencia del antibiótico } (\mu\text{g/mg)}}{\text{Concentración } (\mu\text{g/mL})}$$

La CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) recomienda realizar cálculos cuyo peso del antibiótico no sea inferior de 100 mg. Una vez preparado las soluciones antibióticas stock, estas deben ser alícuotas en criotubos, selladas, rotuladas y conservadas a temperaturas menores o igual a -70 °C. Dicha temperatura permite que se mantenga la actividad del antibiótico sin pérdida significativa de potencia dentro de los seis meses de almacenamiento. El deterioro significativo del antibiótico se evidencia cuando observamos que los resultados MIC de las cepas estándar no concuerdan con los valores del rango establecido para un determinado antibiótico. El sobrante del antibiótico que ha sido utilizado y que previamente fue

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

descongelado debe ser desechado. Evite el contacto directo con los antibióticos puros o concentrados, ello podría producirle hipersensibilidad.

#### 5.5.1.2 Disolventes y diluyentes de antibióticos

Los antibióticos tienen sus disolventes y diluyentes adecuados, según lo establece la farmacopea, así tenemos:

**TABLA N°1. DISOLVENTES Y DILUYENTES DE ANTIBIOTICOS**

ANTIBIOTICO	DISOLVENTE	DILUYENTE
Penicilina	PBS pH 6,0 ó agua	PBS pH 6,0 ó agua
Espectinomicina	Agua	Agua
Tetraciclina	HCl 0,1 N	Agua
Ceftriaxona	PBS pH 6,0	PBS pH 6,0
Cefixima	PBS pH 7,0	PBS pH 7,0
Ciprofloxacina	NaOH 0,1 N	Agua
Azitromicina	Etanol al 95%	Mueller-Hinton

PBS: Solución Buffer Fosfato


El disolvente se usa para obtener una solución antibiótica completamente homogénea; y el diluyente, para obtener una solución antibiótica a la concentración deseada. La preparación de los buffers se detalla en el anexo.

#### 5.5.1.3 Preparación de soluciones de antibióticos a diferentes concentraciones para ser incorporados al medio de cultivo GC

La concentración del antibiótico que debe estar presente en el medio de cultivo, para cada antibiótico a ensayar, se encuentra establecida en tablas propuestas por Organizaciones Referenciales.

Se recomienda hacer las diluciones del antibiótico en tubo de ensayo, vidrio clase A, de 13 x 150 mm, siguiendo los pasos siguientes:

1. Descongelar y atemperar las soluciones stock de antibióticos que va a utilizar.
2. Etiquete y enumere los tubos que va a utilizar. Las concentraciones del antibiótico en tubo deben ser 10X superior a lo que debe estar en el medio de cultivo. Por cada 18 mL de medio de cultivo, se adiciona 2 mL del antibiótico diluido en tubo.

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

3. El antibiótico, solución stock, atemperado, debe ser homogeneizado en un vortex a 1400 r.p.m. durante 15 segundos, para luego realizar las respectivas diluciones en los tubos de ensayo.
4. Entre dilución a dilución, se debe homogenizar adecuadamente la solución antibiótica, utilizar la misma pipeta con la que está realizando las diluciones del antibiótico, sumergiendo la pipeta hasta el fondo del tubo y producir burbujeo.
5. Después de haber terminado con las diluciones, deje en reposo no menos de 10 minutos, ni más de 30.
6. El medio de cultivo que va a utilizar, debe estar en frasco de vidrio de boca ancha con tapa rosca, de capacidad de 100 mL a temperatura de 40- 45 °C.


#### 5.5.1.4 Preparación del medio de cultivo con antibiótico

##### **Preparación del agar base GC enriquecido**

Realizar cálculos para determinar el volumen total de medio de cultivo que va a utilizar, sabiendo que por placa de medio con antibiótico estará conformado por 18 mL de medio Agar base GC enriquecido, más 2 mL de solución antibiótica. Considere que dispondrá de placas con medio de cultivo Base GC enriquecido sin antibiótico (Placas control) para ser utilizadas durante la calibración del replicador de Steer, antes de empezar la inoculación al medio con antibiótico y después de cada antibiótico utilizado.

##### **Preparación de un litro de agar base GC enriquecido:**

- En una probeta graduada, mida 990 mL de agua destilada pH 7.2 ± 0.1
- Dentro de un matraz de 2 L de capacidad, deposite aproximadamente 50 mL. de agua destilada para humedecer las paredes del depósito.
- Pesar 36 gr. de Agar base GC, y adicónarla dentro del matraz.
- Homogenizar la mezcla anterior.
- Adicionar 2 gr. de Bacto agar
- Agregar el resto del agua destilada.
- Disuelva bien los ingredientes al calor (Mechero Bunsen u horno microondas).
- Esterilice el medio en autoclave a 121 °C durante 15 minutos
- Cuando el medio de cultivo se encuentre entre 40 – 45 °C, adicionar 10 mL de suplemento enriquecedor Isovitalex, previamente reconstituido y dejado en reposo durante 10 minutos.
- Repartir 20 mL de medio base GC preparado, a placas petri 100 x 10 mm, las cuales servirán como control de crecimiento bacteriano.

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

### **Preparación de placas conteniendo Agar Base GC con antibiótico**

- Rotular frascos de vidrio clase A, tapa rosca de capacidad 100 a 125 mL, indicando el nombre y concentración del antibiótico que se va a utilizar en la prueba.
- Repartir a cada frasco, 18 mL del medio de cultivo e inmediatamente mantenerlos dentro de una estufa a temperatura de 40 - 45 °C a fin de evitar su solidificación antes que se le haya adicionado el antibiótico.
- Rotular las placas Petri 100x10 mm, sobre las tapas, escribir el nombre y la concentración del antibiótico a utilizar.
- Saque los frascos de la estufa (40 – 45 °C), adicionar 2 mL de la solución antibiótica de concentración que le corresponda a cada frasco.
- Homogenizar bien con movimiento rotatorios, y luego volver a colocar a la estufa durante 10 a 15 minutos
- Repartir en placas, teniendo cuidado que la concentración antibiótica que especifica el frasco coincida con lo que indica la placa Petri.
- Deje en reposo durante 20 – 30 minutos.
- Una vez que han solidificado los medios de cultivo, sellar las placas con parafilm, luego colocarlas (apiladas) dentro de una bolsa plástica y guardarlas en refrigeración hasta el momento de su uso (3 a 5 días de su preparación).


### **Reactivación de Cepas**

Las cepas que van a ser estudiadas mediante la prueba MIC deben ser un máximo 37 cepas incluyendo entre ellas las cepas de referencia o cepas control, número máximo que se puede procesar por grupo del replicador de Steer del laboratorio de Bacterias de Transmisión Sexual del CNSP/INS.

A las cepas *Neisseria gonorrhoeae* que se encuentran almacenadas a – 70°C (crioconservadas), se le debe realizar la reactivación, sembrándolas en medio de cultivo Agar Chocolate enriquecido y luego hacer 1-2 subcultivos, con la finalidad de que las cepas recobren completamente su viabilidad.

- Sacar las cepas de la congeladora, -70°C.
- Dejar a temperatura ambiente.
- Sembrar en agar chocolate enriquecido
- Colocar los cultivos dentro de una jarra de cierre hermético, dándole condiciones de 3-7 % de CO<sub>2</sub> más 50-70% de humedad.
- Incubar a 35°C durante 18 a 24 horas.
- Cerciorarse de que los cultivos no estén contaminados.
- De los cultivos puros hacer subcultivos, siguiendo los pasos anteriormente mencionados.
- Si hubiese cultivos contaminados, purificar haciendo reislamientos en el medio de cultivo Thayer-Martin.



	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>


- Una vez purificada la cepa, proceda hacer el subcultivo correspondiente.

#### 5.5.1.5 Esterilización del replicador de Steer

- Cubrir el Bloc y las agujas de inoculación con placas Petri y luego envolver en papel kraft, esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
- Dejar secar al calor de un horno o estufa.
- La base y el brazo del replicador se esterilizan irradiando luz ultravioleta durante 30 minutos, dentro de la cabina donde se va a procesar la prueba CIM.

#### 5.5.2 Ejecución del método (CIM)

- 5.5.2.1 De las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* a estudiar y las cepas estándar, previa incubación de 15-18 horas, deben hacerse suspensiones bacterianas en caldo Mueller-Hinton, 2 mL; ajustar a la turbidez 0.5 de la escala Mc. Farland (0.05 mL BaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O al 1.175% mas 9.95 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1 %), equivale aproximadamente 1-2 x 10<sup>8</sup> Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por mL.
- 5.5.2.2 A cada suspensión bacteriana, se les debe hacer una dilución 1:10, usando como diluyente caldo Mueller-Hinton para obtener un inóculo de 10<sup>7</sup> UFC.
- 5.5.2.3 Colocar el replicador de Steer estéril dentro de una cabina de flujo laminar o dentro de un ambiente estéril (ver esterilización del replicador de Steer).
- 5.5.2.4 Inmediatamente de haber terminado de hacer la última dilución, proceder a colocar en cada pocillo del block del replicador de Steer la suspensión bacteriana, llenando las 2/3 partes del pocillo (con ayuda de una pipeta estéril) Calibrar la caída de las agujas inoculadoras sobre la superficie del medio de cultivo (estas agujas depositan aproximadamente de 1 a 2 µL de inóculo, aproximadamente 10<sup>4</sup> UFC). Para hacer dicha calibración utilice placas que contienen 20 mL de medio de cultivo Base GC sin antibiótico.
- 5.5.2.5 Las placas con los medios de cultivo con antibiótico a diferentes concentraciones, deberán estar ordenadas de menor a mayor concentración. Asimismo, con ayuda de un plumón de tinta indeleble, hacer una marca en la zona lateral externa de la base de la placa (punto de referencia de ubicación).
- 5.5.2.6 Realizar un primer inóculo en placa GC sin antibiótico (Placa de inicio de la prueba o placa control de inoculación inicial).
- 5.5.2.7 Inocular en las placas con antibiótico, empezando desde la de menor hasta la de mayor concentración.
- 5.5.2.8 Al final de cada grupo de antibióticos en placa a las que se le realizó la inoculación bacteriana, se debe inocular una placa con medio Agar base GC sin antibiótico y así sucesivamente hasta el último antibiótico considerado en el estudio.
- 5.5.2.9 Finalmente, inocular una última placa de Base GC sin antibiótico (placa control de crecimiento). Marcar esta última placa.

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

5.5.2.10 Las placas inoculadas deben permanecer en reposo durante 15 a 20 minutos para luego ser incubadas a 35°C en las condiciones ya mencionadas durante 24 horas.

5.5.2.11 Hacer las lecturas CIM y anotar los resultados en el protocolo previamente elaborado.

### 5.5.3 Control de calidad interno

La Prueba CIM se valida verificando si los resultados de susceptibilidad antibiética de las cepas estándar (*N. gonorrhoeae*: ATCC 49226, WHO III, WHO V y WHO VII) pudiéndose incluir otras cepas estándar que se ajustan a lo establecido por la CLSI y WHO/PAHO, de acuerdo a la tabla 02.

**Tabla 02. RANGO MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) DE CEPAS DE REFERENCIA DE *Neisseria gonorrhoeae***

ANTIBIOTICO	CEPA			
	ATCC 49226	WHO III	WHO V	WHO VII
<b>Penicilina</b>	0,25 - 1,0	0,032 - 0,063	0,25 - 0,5	0,008 - 0,016
<b>Espectinomicina</b>	8,0 - 32,0	16,0 - 32,0	16,0 - 32,0	16,0 - 32,0
<b>Tetraciclina</b>	0,25 - 1,0	0,125 - 0,25	0,5 - 1,0	0,25 - 0,5
<b>Ceftriaxona</b>	0,004 - 0,015	0,002 - 0,004	0,008 - 0,016	0,00025-0,0005
<b>Ciprofloxacina</b>	0,001 - 0,008	0,002 - 0,008	0,002 - 0,008	0,002 - 0,008
<b>Azitromicina</b>	0,25 - 0,5	-	-	-

Fuente: -WHO/PAHO Co-ordinating Centre for Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programs in the Americas and the Caribbean. University of Ottawa-Canada - NCCLS Vol. 19 N° 1 AÑO 1999.

## 6. CÁLCULOS

No aplica


## 7. INFORME DE RESULTADOS

Los resultados son obtenidos a partir del formulario FOR-CNSP-195, se registra en el cuaderno de resultados de laboratorio, posteriormente son ingresados en el sistema NetLab y verificados por el responsable del laboratorio.

Sensible

Resistente

Intermedio

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

## 8. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

De los resultados obtenidos de la prueba CIM, verificar si los valores CIM de las cepas de referencia se ajustan a lo establecido en la tabla estándar. (Tabla 02).

Después de haber validado la prueba, proceder a comparar los datos CIM obtenidos de cada cepa en estudio con los valores de la tabla que indica si dichos valores son sensibles, resistentes o intermedios para cada antibiótico ensayado (Tabla 3).

**Tabla 03 ESTÁNDAR INTERPRETATIVO DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA, CIM DE *Neisseria gonorrhoeae***

Agente antimicrobiano	Susceptible	Intermedio	Resistente
Penicilina	$\leq 0,06$	0,12 – 1	$\geq 2$
Espectinomicina	$\leq 32$	64	$\geq 128$
Tetraciclina	$\leq 0,25$	0,5 – 1	$\geq 2$
Ceftriaxona	$\leq 0,25$	-	-
Cefixima	$\leq 0,25$	-	-
Ciprofloxacina	$\leq 0,06$	0,12 – 0,5	$\geq 1$
Azitromicina	$\leq 2^*$	-	-

Fuente: CLSI Vol. 35 N° 3 AÑO 2015


\*Mehaffey-P-C y Col. (6)

Con los resultados obtenidos en su conjunto, se puede establecer: porcentaje de sensibilidad y/o resistencia, CIM<sub>50</sub>, CIM<sub>90</sub> y fenotipos de resistencia.

**El valor CIM<sub>50</sub> y CIM<sub>90</sub>** indican el 50 y 90 % respectivamente en que las cepas bacterianas en estudio, frente a una determinada concentración de antibiótico en placa, ha inhibido el desarrollo de colonias. Cuando se utiliza éste tipo de reporte, debe indicarse el rango CIM encontrado; es decir, el valor CIM más bajo y el más alto.

**El fenotipo de resistencia antibiótica** se refiere a las variadas manifestaciones o comportamiento de las bacterias que son observadas frente a determinados antibióticos para establecer la susceptibilidad. La resistencia a determinados antibióticos puede ser causada por poseer plásmidos de resistencia, o por causa cromosómica o ambos casos.

Los diversos fenotipos de resistencia se identifican, comparando los valores **CIMs** obtenidos con los valores propuestos (criterios) por el Programa de Vigilancia de la Susceptibilidad antimicrobiana del gonococo (**GASP**) del Canadá –WHO/PAHO.

	<b>MÉTODO DE ENSAYO</b>	<b>MET-CNSP-042</b>
	<b>SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>in vitro</i> PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> POR EL MÉTODO DE CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CIM)</b>	<b>Edición N° 01</b>

### CRITERIOS PARA IDENTIFICAR FENOTIPOS DE RESISTENCIA

- **PPNG**-*N. gonorrhoeae* productora de penicilinasa, positiva a la prueba  $\beta$ -lactamasa. NO INCLUYE PP/TRNG.
- **TRNG**- *N. gonorrhoeae* resistente a la tetraciclina mediada por plásmido, CIM para tetraciclina  $\geq 16$  mg/L. NO INCLUYE PP/TRNG
- **PP/TRNG**-cepas que son PPNG y TRNG
- **CMPR**-resistencia a la penicilina mediada por cromosoma, CIM a la penicilina  $\geq 2$  mg/L (puede presentar MIC a la tetraciclina  $\leq 1$ mg/L). No incluye PPNG. Susceptible a otros antimicrobianos.
- **CMTR**-resistencia a la tetraciclina mediada por cromosoma, CIM a la tetraciclina  $\geq 2$  mg/L, es frecuente 2-8 mg/L (puede tener MIC a la penicilina  $\leq 1$ mg/L. No incluye TRNG. Susceptible a otros antimicrobianos.
- **CMRNG**- *N. gonorrhoeae* multiresistente mediado por cromosoma (resistencia MIC  $\geq 2$  para penicilina y tetraciclina, y puede incluir a eritromicina). Puede presentar reducida susceptibilidad o resistencia a otros antimicrobianos.
- **CMSR**-resistencia a espectinomicina mediada por cromosoma; CIM para espectinomicina  $\geq 128$  mg/L.
- **Cipro<sup>R</sup>**-resistencia a la ciprofloxacina mediada por cromosoma; CIM a la ciprofloxacina  $\geq 2$  mg/L.
- **Susceptible**- totalmente susceptible a todos los antimicrobianos ensayados

### 9. FORMULARIO

FOR-CNSP-195 : Resultados de la susceptibilidad antimicrobiana, Método de CIM *Neisseria gonorrhoeae*.