

Monodiscos de Acido Borónico 300 ug

IVD

USO

Discos empleados para la detección fenotípica de enzimas betalactamasas tipo AmpC y carbapenemasas de clase A de Ambler (que fueran recientemente reclasificadas como pertenecientes al grupo funcional 2f según K.Bush) mediante la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.

FUNDAMENTO

La producción de enzimas betalactamasas es el principal mecanismo de resistencia a los antibióticos betalactámicos en bacilos Gram negativos.

Las **betalactamasas tipo AmpC** pertenecen al grupo 1 según la clasificación de Bush et al (clase C de Ambler). Son cefalosporinas pobremente inhibidas por ácido clavulánico y sulbactam, pero son inhibidas de manera específica y reversible por el ácido borónico.

Estas enzimas son de importancia clínica porque confieren resistencia a una variedad de antibióticos betalactámicos incluyendo las aminopenicilinas, aminopenicilinas/inhibidor, cefalosporinas de primera generación y cefamicinas. Además, cuando son producidas en alta cantidad (hiperproducción), también confieren resistencia a las oximiinocefalosporinas (cefalosporinas de tercera generación). Ciertas enterobacterias, tales como **Enterobacter cloacae**, **Enterobacter aerogenes**, **Citrobacter freundii**, **Morganella morganii** y **Providencia spp.** naturalmente expresan en forma inducible estas enzimas las cuales están codificadas a nivel cromosómico.

A fines de la década de 1980 se reportó la existencia de betalactamasas tipo AmpC plasmidicas en otras enterobacterias, como ser **Klebsiella pneumoniae**, **Escherichia coli**, **Proteus mirabilis** y **Salmonella spp.**

Aunque la resistencia a las cefamicinas (cefexitina) en bacterias que no poseen betalactamasa AmpC cromosómica, puede sugerir la presencia de betalactamasa tipo AmpC plasmídica, también puede deberse a una reducción en la permeabilidad de la membrana externa. Asimismo, la resistencia a cefalosporinas de tercera generación podría estar relacionada a la hiperproducción de AmpC o a la presencia de enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Cada uno de estos posibles mecanismos tiene distintas

implicancias terapéuticas y epidemiológicas.

La familia de las **betalactamasas de tipo KPC (Klebsiella pneumoniae carbapenemasa)** incluye en la actualidad 10 miembros. Esta familia de enzimas ha sido reconocida como la más extrema de las carbapenemasas descritas y que posee capacidad hidrolítica sobre penicilinas, cefalosporinas, monobactams y carbapenemes pero también sobre cefamicinas (cefexitina) e inhibidores de betalactamasas (sulbactam, tazobactam, clavulánico).

A la fecha, KPC ha sido informada principalmente en **Klebsiella pneumoniae** pero se ha descrito además en **Escherichia coli**, **Serratia marcescens**, **Citrobacter spp.**, **Enterobacter spp.**, **Pseudomonas aeruginosa**, **Pseudomonas putida**, **Acinetobacter spp.**, etc.

El uso de los discos de Acido Borónico 300 ug constituye un método fenotípico, rápido, práctico y simple, para detectar microorganismos que poseen estas enzimas y es de enorme utilidad tanto en estudios de vigilancia como para el control de infecciones y evitar así la ocurrencia de brotes nosocomiales.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B1241627: envase x 50 discos.

Discos impregnados con Acido Borónico 300 ug.

INSTRUCCIONES

Producto listo para usar.

ALMACENAMIENTO

Entre -20 y 0°C.

Alternativamente a 2-8 °C durante 7 días.

PROCEDIMIENTO

Se realiza la "Doble difusión de Discos"

Siembra

- Mediante la técnica de hisopado en superficie, inocular el microorganismo en estudio en una placa de Mueller Hinton Agar.

Monodiscos de Acido Borónico 300 ug

Para la detección de betalactamasas tipo AmpC:

- Colocar un disco de Cefoxitina 30 ug y un disco de Ácido Borónico 300 ug, separados por una distancia aproximada de 20 mm de centro a centro.

- Colocar un disco de Cefotaxima 30 ug y un disco de Ácido Borónico 300 ug, a una distancia aproximada de 20 mm de centro a centro, contrapuesto al disco de Cefoxitina.

Para la detección de carbapenemasas de clase A de Ambler (betalactamasas de tipo KPC, Sme, IMI/NMC-A):

De acuerdo a lo sugerido por el "Programa de Control de Calidad en Bacteriología" (Boletín de la Asociación Argentina de Microbiología N° 190) se propone considerar como sospechosas de poseer carbapenemasas a todas las cepas con halo de inhibición a carbapenemes dentro de la categoría "no sensible" (intermedio o resistente). Ello se correspondería con halos ≤ 22 mm para Imipenem.

Pasterán F. y cols recomiendan utilizar la prueba de detección de carbapenemasas en forma similar a la recomendada por Yagi et al para la AmpC plasmídica, con la diferencia que se observa que el sinergismo de la zona inhibitoria o "efecto huevo" se observa alrededor del disco de carbapenem. Los mejores resultados los obtuvo cuando los discos se colocaron a 20 mm de centro a centro.

- Colocar un disco de Imipenem 10 ug y un disco de Ácido Borónico 300 ug, separados por una distancia aproximada de 20 mm de centro a centro.

- Colocar un disco de Meropenem 10 ug y un disco de Ácido Borónico 300 ug, a una distancia aproximada de 20 mm de centro a centro, contrapuesto al disco de Imipenem.

Incubación

En aerobiosis, a 35-37 °C durante 20-24 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observación del halo de inhibición del desarrollo microbiano:

Presencia de enzimas betalactamasas tipo AmpC: agrandamiento o deformación de la zona de inhibición del desarrollo alrededor de uno o de los dos discos de antibiótico betalactámico hacia el disco de Ácido Borónico (a este fenómeno de agrandamiento, se lo llama comúnmente "Efecto Huevo").

Ausencia de enzimas betalactamasas tipo AmpC: no se encuentran alteraciones ni deformaciones en la zona de inhibición del desarrollo alrededor de los discos de los antibióticos betalactámicos hacia el disco de Ácido Borónico

Presencia de enzimas betalactamasas tipo KPC: agrandamiento o deformación de la zona de inhibición del desarrollo alrededor de uno o de los dos discos de carbapenemes hacia el disco de Ácido Borónico (a este fenómeno de agrandamiento, se lo llama comúnmente "Efecto Huevo").

Ausencia de enzimas betalactamasas tipo KPC: no se encuentran alteraciones ni deformaciones en la zona de inhibición del desarrollo alrededor de los discos de carbapenemes hacia el disco de Ácido Borónico.

CONTROL DE CALIDAD

Se utilizan como controles positivos cepas clínicas de *Proteus* y *Klebsiella pneumoniae* confirmadas por biología molecular como productoras de enzimas betalactamasas tipo AmpC y KPC respectivamente y como control negativo la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

MICROORGANISMOS	PRESENCIA DE BETALACTAMASAS TIPO AMPC O KPC
<i>Proteus mirabilis</i> productores de AmpC	Positivo
<i>Klebsiella pneumoniae</i> productores de KPC	Positivo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negativo

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

LIMITACIONES

- Utilizar el medio de cultivo Mueller Hinton Agar en placas, con valor de pH 7,2-7,4 y espesor 4 mm. Si el espesor es diferente de 4 mm se obtendrán halos mayores o menores según el caso.

- Trabajar con cultivo puro del microorganismo en estudio.

- Luego de aplicar los discos, ejercer ligera presión sobre los mismos para lograr el buen contacto con el agar. Transcurridos 15 minutos de la aplicación de los discos, incubar las placas.

- Es fundamental la distancia de colocación de los discos para una correcta interpretación de los resultados.

- Las cepas salvajes de *Pseudomonas aeruginosa* presentan resultados positivos. No se recomienda el uso del disco de ácido borónico en aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

Monodiscos de Acido Borónico 300 ug

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Dejar que los envases conteniendo el producto alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlos.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.

- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- Jennifer A. Black, Kenneth S. Thomson and Johann D.D. Pitout. 2004. Use of β -Lactamase Inhibitors in Disk Tests to Detect Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamases, Journal Clinical Microbiology, vol 42, N° 5, p.2203-2206.
- Tetsuya Yagi, Jun-ichi Wachino, Hiroshi Kurokawa, Satowa Suzuki, Kunikazu Yamane, Yohei Doi, Naohiro Shibata, Haru Kato, Keigo Shibayama and Yoshichika Arakawa. 2005. Practical Methods Using Boronic Acid Compounds for Identification of Class C β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, Journal Clinical Microbiology, vol 43, N° 6, p.2551-2558.
- Philip E. Coudron. 2005. Inhibitor-Based Methods for Detection of Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamases in *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*, Journal Clinical Microbiology, vol 43,

N° 8, p.4163-4167.

- Jennifer A. Black, Kenneth S. Thomson, John D. Buynak and Johann D.D. Pitout. 2005. Evaluation of β -Lactamase Inhibitors in Disk Tests for Detection of Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamases in Well-Characterized Clinical Strains of *Klebsiella* spp., Journal Clinical Microbiology, vol 43, N° 8, p.4168-4171.
- Johann D.D Pitout, Daniel B. Gregson, Deirdre L. Church and Kevin B. Laupland. 2007. Population-based Laboratory Surveillance for AmpC β -Lactamase-producing *Escherichia coli*, Emerging Infectious Diseases, vol 13, N° 3.
- Fernando Pasteran, Tania Mendez, Leonor Guerriero, Melina Rapoport, and Alejandra Corso. 2009. Sensitive Screening Tests for Suspected Class A Carbapenemase Production in Species of Enterobacteriaceae, Journal Clinical Microbiology, vol 47, N° 4, p.1631-1639.
- 24° Curso Intensivo de Actualización en antimicrobianos "Dra Alicia Rossi", 22° Curso Latinoamericano de Actualización en Antimicrobianos. 2010. Servicio de Antimicrobianos, Departamento Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS "Doctor Carlos G. Malbran".
- Boletín de la Asociación Argentina de Microbiología N° 190, Octubre-Diciembre 2010. Comentarios del Programa Nacional de Control de Calidad, página 6-9.
- Fernando Pasteran, Tania Mendez, Melina Rapoport, Leonor Guerriero and Alejandra Corso. 2010. Controlling False-Positive Results Obtained with the Hodge and Masuda Assays for Detection of Class A Carbapenemase in Species of Enterobacteriaceae by Incorporating Boronic Acid, Journal Clinical Microbiology, vol 48, N° 4, p.1323-1332.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

- Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
- Conservar el producto según las indicaciones del rótulo

SÍMBOLOS UTILIZADOS



DIAGNÓSTICO
IN VITRO



CÓDIGO N°



ELABORADOR



ESTÉRIL



N° DE
DETERMINACIONES



LOTE N°



FECHA DE
VENCIMIENTO



LÍMITE DE
TEMPERATURA



INSTRUCCIONES
DE USO

HOJA 3 DE 3