

Control de calidad de las Pruebas de sensibilidad

Mg. Paola. G. Ceriana
Servicio Antimicrobianos
INEI. ANLIS. "Dr. Carlos G. Malbrán"
LNR y LRR en Resistencia a los Antimicrobianos
WHOCC en Vigilancia de Resistencia a los Antimicrobianos
MSAL- OPS/OMS
pceriana@anlis.gob.ar

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



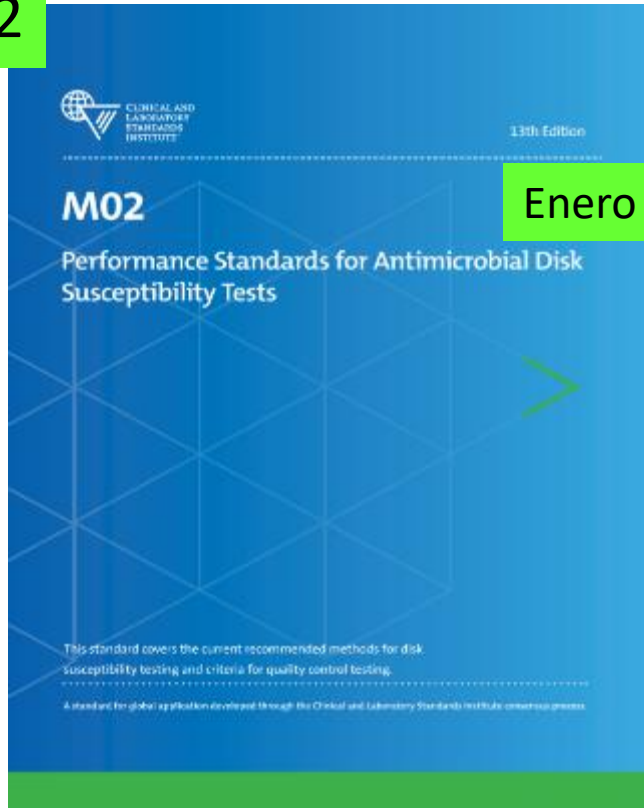
ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

Documento M02. 13th Edition

M02

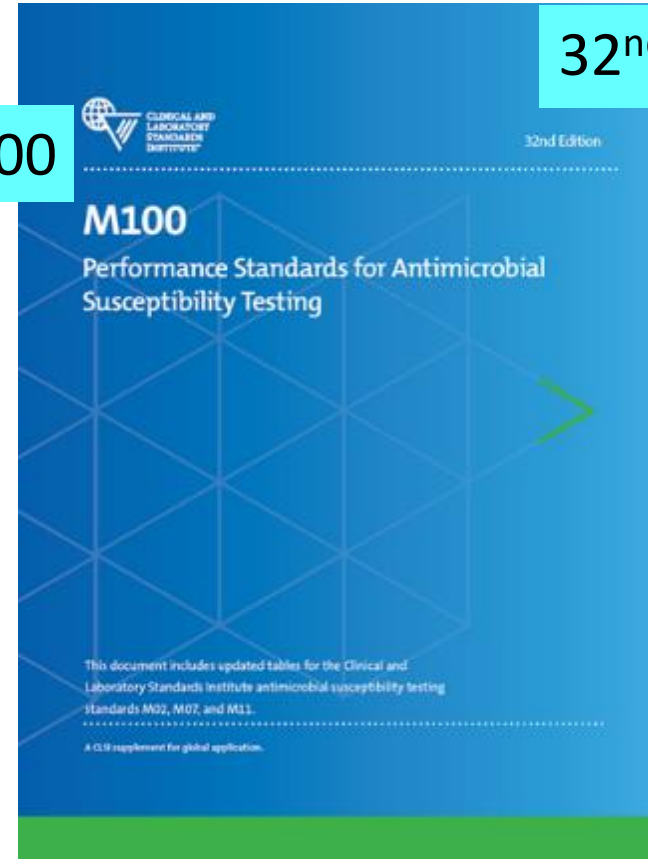


Enero 2018

Documento M100

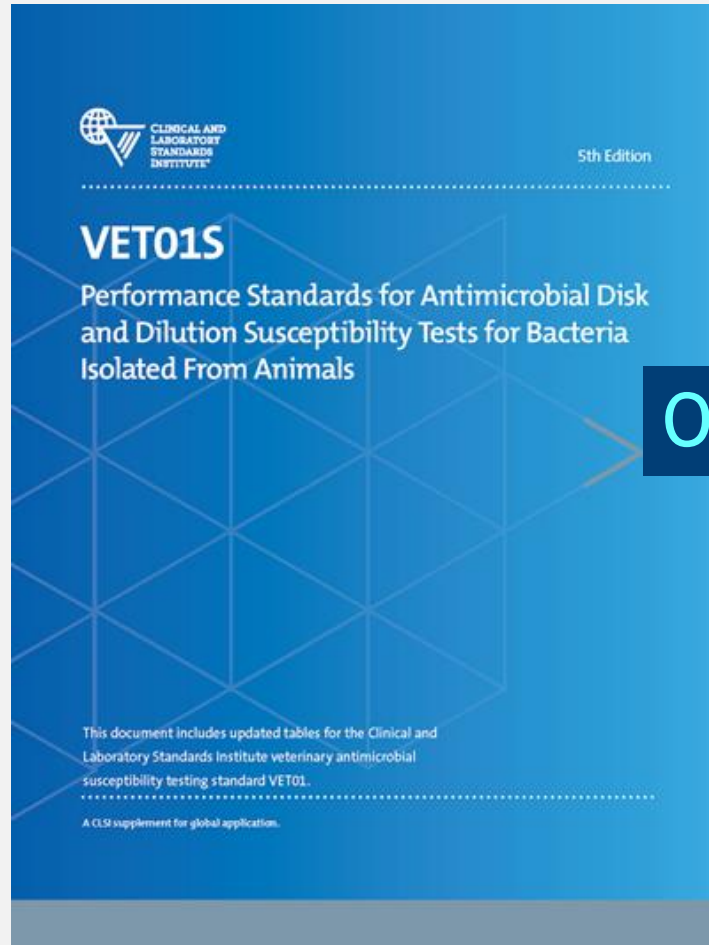
32nd Edition

M100



M100S
Vigencia:
sólo
2022

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Octubre 2020

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

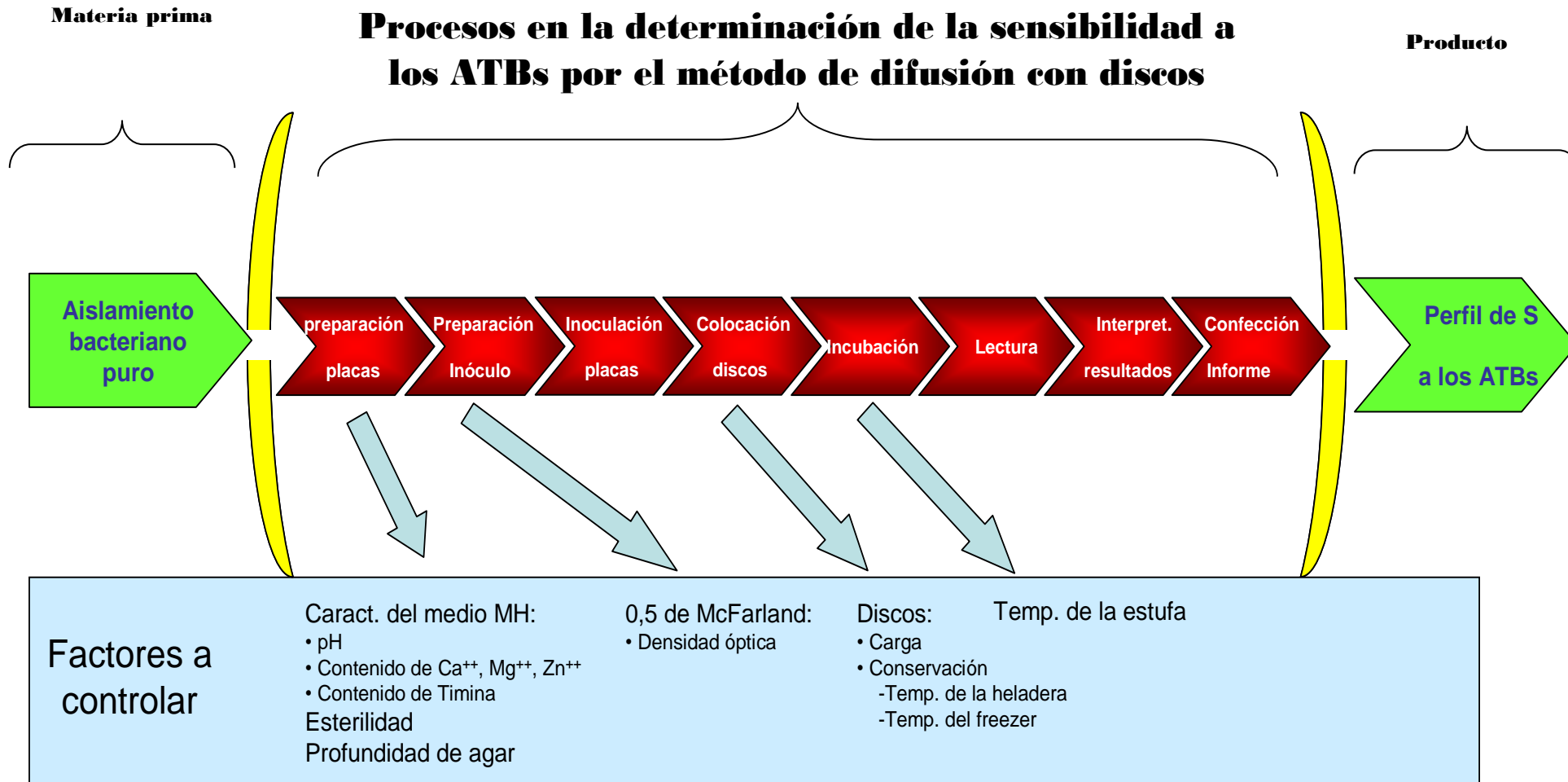
CONTROL DE CALIDAD

Incluye los procedimientos para monitorear el desempeño de las Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos para asegurar resultados exactos y reproducibles.

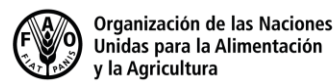
Objetivo: Monitorear

- Precisión (reproducibilidad) y Exactitud de las Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos
- Desempeño de los reactivos y equipos usados en el ensayo;
- El desempeño de las personas que realizan los ensayos e informan los resultados.

Trazabilidad de una prueba de sensibilidad por difusión



TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Método de Difusión. Cepas patrones.

Documentos M02. CLSI 2018 y Documento M100-Apéndice C*

Cepas para el Control de Calidad de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos

*En el Apéndice C figuran las cepas ATCC y sus características.

CEPAS de REFERENCIA: Son ensayadas diariamente o semanalmente para asegurar que los ensayos se desarrollan correctamente y los resultados están dentro de los límites especificados en el documento M100

E. coli ATCC® 25922

E. coli ATCC® 35218

P. aeruginosa ATCC® 27853

S. aureus ATCC® 25923

E. faecalis ATCC® 29212

CEPAS de REFERENCIA SUPLEMENTARIAS: se usan para ensayar una característica particular de una prueba . Pueden ser cepas alternativas.

K. pneumoniae ATCC® 700603

S. aureus ATCC® 43300

E. faecalis ATCC® 51299

K. pneumoniae ATCC® BAA-1705

K. pneumoniae ATCC® BAA-1706

S. aureus ATCC® BAA-976

S. aureus ATCC® BAA-977

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



QC Strains for Antimicrobial Susceptibility Tests

APENDICE C

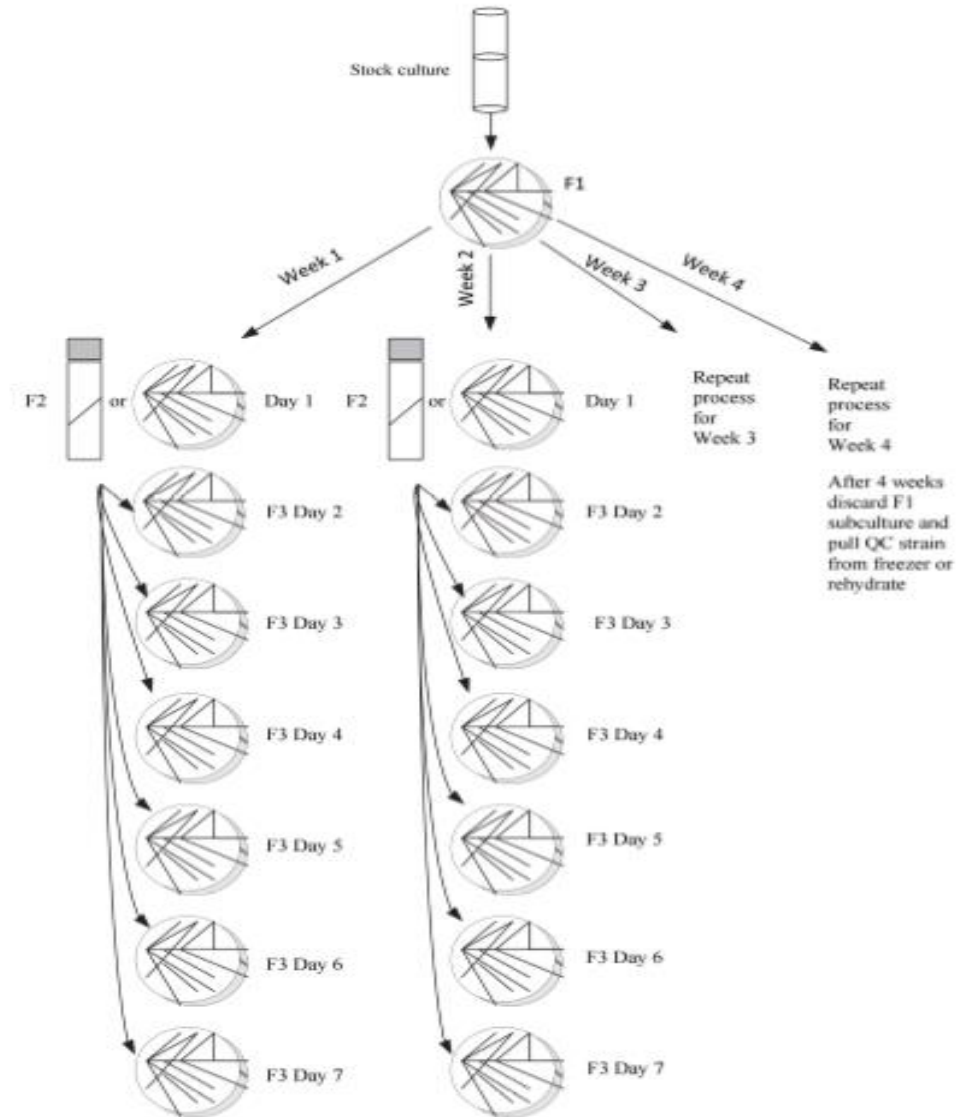
or Use With M02 and M07

Appendix C. (Continued)

QC Strains	Organism Characteristics	Disk Diffusion Tests	MIC Tests	Other Tests	Comments
<i>E. faecalis</i> ATCC® 33186					<ul style="list-style-type: none"> Alternative to <i>E. faecalis</i> ATCC® 29212 to assess suitability of MHA for sulfonamide or trimethoprim disk diffusion tests.^d
<i>E. faecalis</i> ATCC® 51299	<ul style="list-style-type: none"> <i>vanB</i> (vancomycin resistant) Resistant to high-level aminoglycosides 			<ul style="list-style-type: none"> Vancomycin agar HLAR tests 	
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	<ul style="list-style-type: none"> β-lactamase negative 	<ul style="list-style-type: none"> Nonfastidious gram-negative bacteria <i>Neisseria meningitidis</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Nonfastidious gram-negative bacteria <i>N. meningitidis</i> 		
<i>E. coli</i> ATCC® 35218 ^{a,b,1}	<ul style="list-style-type: none"> TEM-1 	<ul style="list-style-type: none"> β-lactam combination agents 	<ul style="list-style-type: none"> β-lactam combination agents 		
<i>E. coli</i> NCTC 13353 ^{a,b,2}	<ul style="list-style-type: none"> CTX-M-15 (ESBL) 	<ul style="list-style-type: none"> β-lactam combination agents 	<ul style="list-style-type: none"> β-lactam combination agents 		
<i>E. coli</i> AR Bank #0349 ³	<ul style="list-style-type: none"> MCR-1 			<ul style="list-style-type: none"> Colistin broth disk elution Colistin agar test 	

Appendix C. Quality Control Strain Maintenance

Figure C1 illustrates the workflow for subculturing and using reference strains as described in Subchapter 4.4 of this standard. In Figure C1, "F" indicates the "frozen" or "freeze-dried" state of the stock culture, while "1" indicates the first passage, "2" the second passage, and "3" the third passage from the stock culture.



Abbreviation: QC, quality control.

Figure C1. Workflow for Subculturing and Using Reference Strains

M02,13thed

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

CONTROL DE CALIDAD DEL AGAR MUELLER HINTON.

CON ELECTRODO DE SUPERFICIE

Control del pH



pH ácido → Menor actividad:

Macrólidos,
Aminoglucósidos,
Quinolonas

pH ácido → Mayor actividad :

Tetraciclinas

C/lote de medio preparado o comprado

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

CONTROL DE CALIDAD DEL AGAR MUELLER HINTON.

CONCENTRACION DE TIMINA (Tm) / TIMIDINA (Td)

Exceso Tm / Td

Falsa Resistencia con Sulfas y Trimetoprima

Control de Tm y Td en el medio:

E. faecalis ATCC 29212 con SXT : ≥ 20 mm

CONTROL DE CALIDAD DEL AGAR MUELLER HINTON.

CONCENTRACION DE CATIONES BIVALENTES

Ca^{++} : 20 -25 mg/l y Mg^{++} : 10 - 12.5 mg/l

Exceso Ca^{++} y Mg^{++} Falsa Resistencia

Defecto Ca^{++} y Mg^{++} Falsa Sensibilidad

P. aeruginosa ATCC 27853 con GEN = 17- 23 mm

CONTROL DE CALIDAD DEL AGAR MUELLER HINTON.

CONCENTRACION DE CATIONES BIVALENTES

Zn⁺⁺

Afecta: carbapenemes

Exceso Falsa Resistencia

P. aeruginosa ATCC 27853 con IMI = 20- 28 mm

Defecto: error en la deteccion de MBL

≠ marca de placas ≠ diámetro

$$\text{Vol} = \pi \cdot r^2 \cdot h$$

$$\text{Vol}_{\text{agar}} = 3,14 \cdot ?^2 (\text{cm}^2) \cdot 0,4 (\text{cm})$$

? = radio de la placa de Petri

Si Ø= 10 cm	▶	31,4 ml
Si Ø= 9 cm	▶	25,4 ml
Si Ø= 8,5 cm	▶	22,7 ml

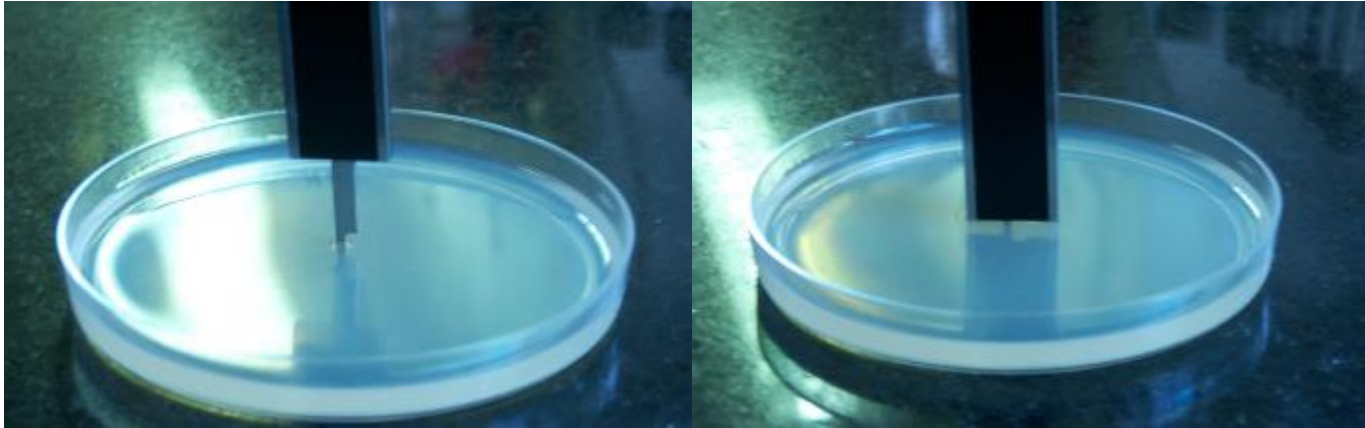
Tolerancia: ± 0,5 mm (3,5 - 4,5mm)

CONTROL DE CALIDAD. Método de Difusión.

Control de profundidad del agar.

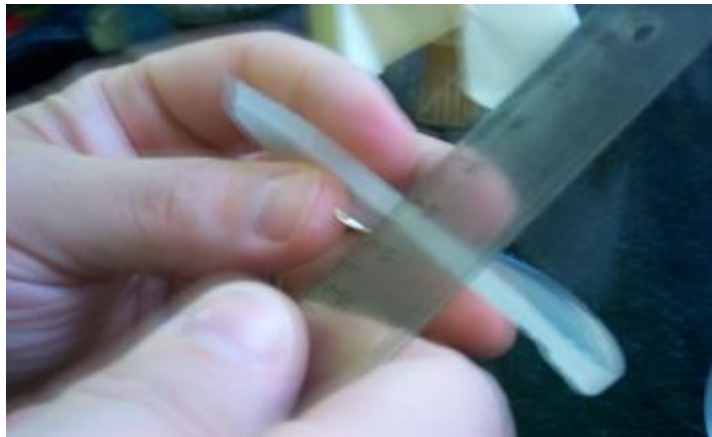
Frecuencia: Cada vez que se prepara o compra un lote de placas

Con Calibre



Con regla

Con elemento marcado



CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Método de Difusión. Control de discos.

E. coli ATCC® 25922
E. coli ATCC® 35218
P. aeruginosa ATCC® 27853
S. aureus ATCC® 25923
E. faecalis ATCC® 29212

IDEAL SEMANALMENTE

ACEPTABLE QUINCENALMENTE

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Unión Europea

Table 4A-1
Nonfastidious Disk Diffusion QC Excluding β -Lactam Combination Agents
M02

Table 4A-1. Disk Diffusion QC Ranges for Nonfastidious Organisms and Antimicrobial Agents Excluding β -Lactam Combination Agents^a

Antimicrobial Agent	Disk Content	Disk Diffusion QC Ranges, mm		
		<i>Escherichia coli</i> ATCC ^{ab} 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC ^c 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC ^c 25923
Ampicillin	10 μ g	15-22	-	27-35
Azithromycin	15 μ g	-	-	21-26
Azlocillin	75 μ g	-	24-30	-
Aztreonam	30 μ g	28-36	23-29	-
Carbenicillin	100 μ g	23-29	18-24	-
Cefaclor	30 μ g	23-27	-	27-31
Cefamandole	30 μ g	26-32	-	26-34
Cefazolin	30 μ g	21-27	-	29-35
Cefdinir	5 μ g	24-28	-	25-32
Cefditoren	5 μ g	22-28	-	20-28
Cefepime	30 μ g	31-37	25-31	23-29
Cefetamet	10 μ g	24-29	-	-
Cefiderocol	30 μ g	25-31	22-31	-
Cefixime	5 μ g	20-26	-	-
Cefmetazole	30 μ g	26-32	-	25-34
Cefonicid	30 μ g	25-29	-	22-28
Cefoperazone	75 μ g	28-34	23-29	24-33
Cefotaxime	30 μ g	29-35	18-22	25-31
Cefotetan	30 μ g	28-34	-	17-23
Cefoxitin	30 μ g	23-29	-	23-29
Cefpodoxime	10 μ g	23-28	-	19-25
Cefprozil	30 μ g	21-27	-	27-33
Ceftaroline	30 μ g	26-34	-	26-35
Ceftazidime	30 μ g	25-32	22-29	16-20
Ceftibuten	30 μ g	27-35	-	-
Ceftizoxime	30 μ g	30-36	17-23	27-35
Ceftobiprole	5 μ g	25-31	-	20-27
Ceftriaxone	30 μ g	29-35	17-23	22-28
Cefuroxime	30 μ g	20-26	-	27-35

170

Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

M100-E31

For Use With M02

TRABAJANDO JUNTOS PARA COMBATIR LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

Table 4A-2
Nonfastidious Disk Diffusion QC for β -Lactam Combination Agents
M02

Table 4A-2. Disk Diffusion QC Ranges for Nonfastidious Organisms and β -Lactam Combination Agents^a

Antimicrobial Agent	Disk Content	QC Organisms and Characteristics								
		<i>Escherichia coli</i> ATCC ^{®b} 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC [®] 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 35218 ^{c,d}	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC [®] 700603 ^{c,d}	<i>Escherichia coli</i> NCTC 13353 ^{c,d}	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC [®] BAA-1705 ^{mc,d}	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC [®] BAA-2814 ^m	<i>Acinetobacter baumannii</i> NCTC 13304 ^{c,d}
		β -lactamase negative	Inducible AmpC	β -lactamase negative, <i>mecA</i> negative	TEM-1	SHV-18 OXA-2 Mutations in <i>OmpK35</i> and <i>OmpK37</i> TEM-1	CTX-M-15	KPC-2 SHV	KPC-3 SHV-11 TEM-1	OXA-27
Zone Diameter QC Ranges, mm										
Amoxicillin-clavulanate (2:1)	20/10 μ g	18-24	-	28-36	17-22	-	-	-	-	-
Ampicillin	10 μ g	15-22	-	27-35	6	-	-	-	-	-
Ampicillin-sulbactam (2:1)	10/10 μ g	19-24	-	29-37	13-19	-	-	-	-	-
Aztreonam	30 μ g	28-36	23-29	-	31-38	10-16	-	-	-	-
Aztreonam-avibactam	30/20 μ g	32-38	24-30	-	31-38	26-32 ^e	-	-	-	-
Cefepime	30 μ g	31-37	25-31	23-29	31-37	23-29	6-15 ^f	-	-	6-16 ^f
Cefepime-enmetazobactam ^g	30/20 μ g	32-38	26-32	-	32-38	26-32	27-33	-	-	-
Cefepime-taniborbactam	30/20 μ g	31-37	25-31	-	31-37	24-31	24-30	22-27	-	-
Cefepime-tazobactam	30/20 μ g	32-37	27-31	24-30	-	25-30 ^e	27-31	-	-	-
Cefepime-zidebactam	30/30 μ g	33-40	29-35	-	-	28-34	29-35	-	-	19-25
Cefotaxime	30 μ g	29-35	18-22	25-31	-	17-25	-	-	-	-
Cefpodoxime	10 μ g	23-28	-	19-25	-	9-16	-	-	-	-
Ceftaroline	30 μ g	26-34	-	26-35	-	-	-	-	-	-
Ceftaroline-avibactam	30/15 μ g	27-34	17-26	25-34	27-35	21-27 ^e	-	-	-	-
Ceftazidime	30 μ g	25-32	22-29	16-20	-	10-18	-	-	-	-

M100-ED31

Cepa recomendada para QC de rutina

TRABAJANDO JUNTOS PARA COMBATIR LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Ensayar uno de estos agentes para confirmar la integridad de la cepa de referencia

Table 4D. Disk Diffusion Troubleshooting Guide

This table provides guidance for troubleshooting and corrective action for out-of-range QC, primarily using antimicrobial susceptibility tests with MHA. Refer to M02,¹ Chapter 4, for additional information. Out-of-range QC tests are often the result of contamination or the use of an incorrect QC strain; corrective action should first include repeating the test with a pure culture of a freshly subcultured QC strain. If the issue is unresolved, this troubleshooting guide should be consulted regarding additional suggestions for troubleshooting out-of-range QC results and unusual clinical isolate results. In addition, see general corrective action outlined in M02¹ and notify manufacturers of potential product problems.

General Comment

- (1) QC organism maintenance: Avoid repeated subcultures. Retrieve new QC strain from stock (refer to M02,¹ Subchapter 4.4). If using lyophilized strains, follow the maintenance recommendations of the manufacturer.

Antimicrobial Agent	QC Strain	Observation	Probable Cause	Comments/Suggested Actions
B-LACTAMS				
β-lactam combination agents	<i>A. baumannii</i> ATCC [®] 13304 <i>E. coli</i> ATCC [®] 35218 <i>E. coli</i> ATCC [®] 13353 <i>K. pneumoniae</i> ATCC [®] 700603 <i>K. pneumoniae</i> ATCC [®] BAA-1705™	Zone too large or susceptible for single β-lactam agent; in range for combination β-lactam agent	Spontaneous loss of the plasmid encoding the B-lactamase	Obtain new frozen or lyophilized stock culture. Use other routine QC strains (if available). These strains should be stored at -60°C or below, and frequent subcultures should be avoided. NOTE: <i>K. pneumoniae</i> BAA-2814™ is stable and does not require QC integrity check
	β-lactam combination agents	<i>A. baumannii</i> ATCC [®] 13304 <i>E. coli</i> ATCC [®] 35218 <i>E. coli</i> ATCC [®] 13353 <i>K. pneumoniae</i> ATCC [®] 700603 <i>K. pneumoniae</i> ATCC [®] BAA-1705™ <i>K. pneumoniae</i> ATCC [®] BAA-2814™	Zone too small or resistant for both the single β-lactam agent and the combination β-lactam agent	Antimicrobial agent is degrading.
Carbencillin	<i>P. aeruginosa</i> ATCC [®] 27853	Zone too small	QC strain develops resistance after repeated subculture.	See general comment (1) on QC strain maintenance.
Cefepime	<i>A. baumannii</i> NCTC 13304 <i>E. coli</i> NCTC 13353	QC strain integrity test	Discrete colonies may grow within the zone of inhibition when this organism is tested with cefepime 30-μg disk.	If this occurs, measure the colony-free inner zone.
Imipenem	<i>K. pneumoniae</i> ATCC [®] BAA-1705™ <i>K. pneumoniae</i> ATCC [®] BAA-2814™	QC strain integrity test	Discrete colonies may grow within the zone of inhibition when this organism is tested with cefepime, 30-μg disk.	If this occurs, measure the colony-free inner zone.

REGISTRO

En Resumen

- ❖ ESTERILIDAD
- ❖ PROFUNDIDAD DEL AGAR
- ❖ pH
- ❖ CONTENIDO DE TIMINA
- ❖ CONCENTRACION DE CATIONES DIVALENTES
- ❖ CARGA DE LOS DISCOS UTILIZADOS
- ❖ CEPAS PATRONES
- ❖ EQUIPOS

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



El control de calidad es una de las herramientas fundamentales para obtener datos microbiológicos confiables y reproducibles, útiles para mejorar la calidad del diagnóstico y para el fortalecimiento de la vigilancia.

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS



MUCHAS GRACIAS!!!

pceriana@anlis.gob.ar

TRABAJANDO
JUNTOS
PARA COMBATIR
LA RESISTENCIA
A LOS ANTIMICROBIANOS

