



# NUEVOS PASOS EN LA VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA DE NEISSERIA GONORRHOEAE EN LATINOAMÉRICA AVANCES Y DESAFÍOS.

PATRICIA GALARZA

Laboratorio Nacional de Referencia en ITS. INEI ANLIS "Dr. C. G. Malbrán".  
Argentina

Laboratorio de Referencia Regional para PCCNG PAHO/WHO



Capacitación

Programa de Control de Calidad en NG

Vigilancia de la RAM en gonococo

Epidemiología molecular regional

# Capacitación

## Diagnostico y Pruebas de Sensibilidad para *N. gonorrhoeae*



2012

- Jun: Curso de Antimicrobianos. PARAGUAY
- Dic: Taller Gono Teorico-Demostrativo. NICARAGUA

2013

- Junio: Pasante en LRR: Lic. Gener. NICARAGUA
- Dic: Taller de Fortalec. para Centroamérica. GUATEMALA

2014

- PANAMA: Reunión técnica

2015

- Taller Fortalec. Para la Región Andina. PERU

2016

2011

WEBEX

PCCNG

Compra de replicadores para países seleccionados

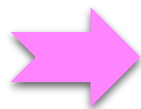
Plan de Acción LAC para la vigilancia de la resistencia NG

2017  
Taller LAT Uruguay

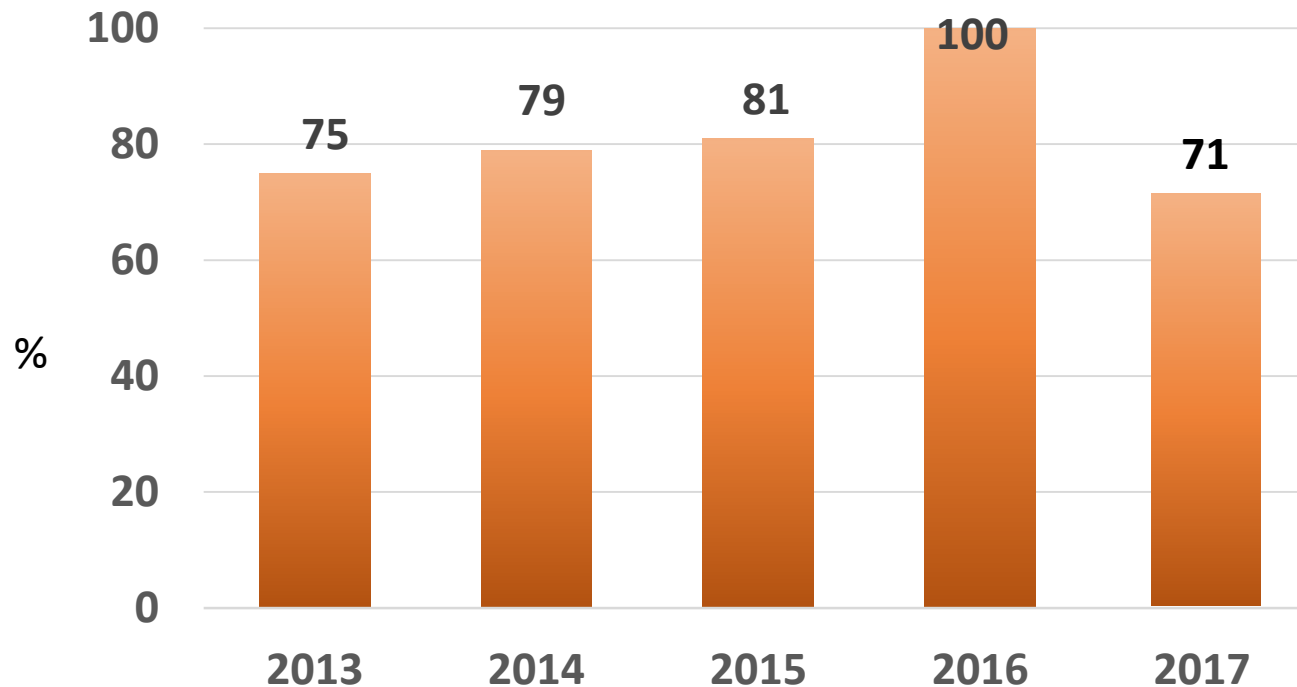
# Control Externo de Calidad



Laboratorios Participantes	País
INLASA	Bolivia
Instituto de Salud Pública	Chile
Instituto Nacional de Salud	Colombia
INCIENSA	Costa Rica
Inst. Nac. De Higiene y Medicina Tropical "L. I. Perez"	Ecuador
Laboratorio Central "Dr. Max Bloch"	El Salvador
Laboratorio Nacional de Salud	Guatemala
Departamento de Laboratorios	Honduras
Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológico	Mexico
Centro Nac. de Diagnóstico y Referencia (CNDR)	Nicaragua
Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública	Panamá
Laboratorio Central de Salud Pública	Paraguay
Instituto Nacional de Salud	Perú
Laboratorio Nacional de Salud Pública "Dr. Defilló"	R. Dominicana
Laboratorios de Salud Pública	Uruguay
Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"	Venezuela
Lab. Biol molecular . Centro de Cs de la Saude	Brasil



# Porcentaje de laboratorios que respondieron el CCNG (2013-2017)



6/17

El PCCNG comenzó en 2013.  
A la fecha, 5 paneles fueron enviados





**PROGRAMA LATINOAMERICANO DE CONTROL DE CALIDAD EN IDENTIFICACIÓN Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA PARA *Neisseria gonorrhoeae***



**Panel-NG 05/2017**



**17**

**Laboratorios Participantes**

**2017**



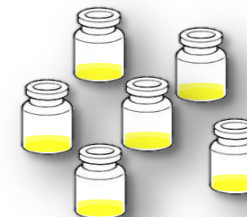
**OPS-NG 19 QRNG/AZR**

**OPS-NG 20 CMRNG/AZR (INM-7069)**

**OPS-NG 21 PPNG TEM-220 (INM5069)**

**OPS-NG 22 QRNG/AZR**

**OPS-NG 23 *K. denitrificans***



# Identificación



**2013**

Cepa	Recuperacion de Liofilizados	Identificacion Presuntiva	Identificacion Definitiva
OPS-NG 01	12/12	6/12	10/12
OPS-NG 02	12/12	6/12	10/12
OPS-NG 03	10/12	6/12	10/12

**2017**

Cepa	Recuperación de Liofilizados	Identificación Presuntiva	Identificación Definitiva
OPS-NG 19	11/12	10/11	11/11
OPS-NG 20	11/12	10/11	11/11
OPS-NG 21	11/12	11/12	12/12
OPS-NG 22	11/12	10/11	11/11
OPS-NG 23	10/12	8/10	9/10

# Identificación



OPS-NG 23	Diagnostico presuntivo				Diagnostico Confirmatorio						Identificación	
	Laboratorio	TM	GRAM	Oxidasa	Superoxol	Utilización de Azucres				Serología		MC
						Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa			
1	+	CBN****	+	-	-	-	-	-	-	NR	NR	<i>Neisseria elongata</i>
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sin Respuesta
4	+	Coco Gram Negativo	+	-	+	-	-	-	-	NR	VITEK 2	<i>Kingella denitrificans</i>
5												No Viable
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sin Respuesta
7	+	Bacilos Gram Negativo	+	-	-	-	NR	-	-	NR	NR	<i>Kingella denitrificans</i>
8	+	DCGN	+	-	+	-	-	-	-	NR	API NH	Probable <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
9	NR	Bacilos Gram Negativo	+	-	+	-	-	-	-	NR	API NH	<i>Kingella denitrificans</i>
10	NR	Bacilos Gram Negativo	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	RT-PCR	No Indica
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sin Respuesta
12												No Viable
13	+	DCGN	+	+	+	-	-	-	-	NR	NR	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
14	+	CBN	+	-	-	-	-	-	-	NR	Maldi-Tof	<i>Kingella denitrificans</i>
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sin Respuesta
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sin Respuesta
17	+	CBN	+	-	+	-	-	-	-	NR	NR	<i>Kingella denitrificans</i>
18	+	CBN	+	-	NR	NR	NR	NR	NR	NR	Maldi-Tof / Vitek 2	<i>Kingella denitrificans</i>

IDENTIFICACIÓN	OPS-NG 19	OPS-NG 20	OPS-NG 21	OPS-NG 22	OPS-NG 23
Genero y Especie Correctos	11/11	11/11	12/12	11/11	6/9
Genero Correcto	-	-	-	-	-
Genero Correcto y Especie Incorrecta	-	-	-	-	-
Genero Incorrecto	-	-	-	-	3/9



# Identificación



Numero de Laboratorios que Realizan Pruebas de Indentificación Presuntiva y Confirmatoria

Diagnostico presuntivo				Diagnostico Confirmatorio								
TM	GRAM	Oxidasa	Superoxol	Utilización de Azucares				Serologia	Métodos Comerciales			
				Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa		Moleculares	Vitek 2	API NH	Maldi-Tof
11/12	12/12	12/12	12/12	11/12	11/12	11/12	11/12	0/12	1/12	2/12	3/12	2/12

Realización de 2 vs 1 técnica, 7:5 laboratorios

In laboratories that identify many isolates, *N. gonorrhoeae* is frequently confirmed using a specific reagent and then, if any are unexpectedly negative, these are further tested using a biochemical kit. **No test is 100% sensitive and specific so, if resources are available, it is currently recommended that clinical isolates of *N. gonorrhoeae* should be confirmed using a combination of biochemical and immunological tests (or molecular tests where available).** This approach is especially recommended for reference laboratories.

**Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus**



World Health Organization

# Difusión en Medio Solido



Cepa	Beta - Lactamasa		Fenotipo de Resistencia	
	Laboratorio Coordinador	Laboratorios Participantes	Laboratorio Coordinador	Laboratorios Participantes
OPS-NG 19	NEG	11/11	QRNG/AZR	2/9
OPS-NG 20	NEG	11/11	CMRNG/AZR	3/8
OPS-NG 21	POS	12/12	PPNG	4/10
OPS-NG 22	NEG	10/11	QRNG/AZR	2/9
OPS-NG 23	NR	-	NR	-

OPS-NG 20						
Antibiótico	Carga de Disco	Laboratorio Coordinador		Numero de Laboratorios		
		Halo (mm)	Interp.	S	I	R
Penicilina	10 U	16	R	-	1	8
Tetraciclina	30 ug	28	R	-	-	9
Ciprofloxacina	5 ug	42	S	4	5	-
Ceftriaxona	30 ug	33	NS*	5	-	3**
Cefixima	5 ug	29	NS	2	-	1

\*NS: No Susceptible

\*\*Dos laboratorios reportaron fenotipo NS y un laboratorio fenotipo R

# Difusión en Medio Solido



Antibiótico	Codigo de Laboratorio								
	1	4	5	7	8	10	12	17	18
Penicilina	1Mi	-	-	-	1Mi	1Mi	1Mi	1Mi	-
Tetraciclina	1Mi	3Mi	2Mi	-	3Mi	2Mi	-	2Mi	2Mi
Ciprofloxacina	-	1Mi	1Mi	-	1Mi	1Mi	-	-	1Mi
Ceftriaxona	1VMa	-	1VMa	1VMa	1VMa	-	-	1VMa	-
Cefixima	1VMa	-	-	1VMa	-	-	-	-	-

Mi: Error Minor

Ma: Error Mayor

VMa: Error Very Mayor

- Evaluacion de la difusion con discos mostro 7  
 discrepancias very mayor para las cefalosporinas de  
 tercera generacion (a expensas de la cepa OPS NG20)

# Concentración Inhibitoria Mínima

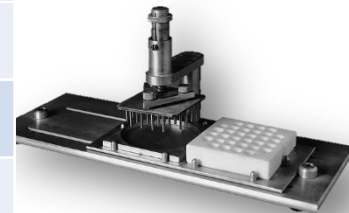


Laboratorios que Realizan CIM*	Laboratorios que Utilizan Cepas de Referencia
6/12	4/6

\*Concentración Inhibitoria Mínima

**El 50% de los laboratorios realizaron determinación de la CIM**

Antibiotico	laboratorios
Penicilina	5
Tetraciclina	5
Ciprofloxacina	5
Ceftriaxona	6
Cefixima	4
Azitromicina	5



# Concentración Inhibitoria Mínima



Comparacion de todos los resultados de CIM obtenidos por cada laboratorio participante, con los resultados de los valores modales de CIM								
Laboratorio	$\leq -2$	-1	Igual	+1	$\geq +2$	Total de CIMs incluidas en el calculo	Total de CIMs +/- 1 dilución modal	Porcentaje de Concordancia (%)
LC	-	2	48	10	-	60	60	100
1	4	4	-	-	1	9	4	44
7	9	8	24	5	-	46	37	80
8	-	-	2	2	8	12	4	33
14	2	26	22	1	-	51	49	96
17	-	5	14	10	2	31	29	94
18	-	5	35	9	-	49	49	100
<b>TOTAL</b>	<b>15</b>	<b>50</b>	<b>145</b>	<b>37</b>	<b>11</b>	<b>258</b>	<b>232</b>	<b>90</b>

- ❑ La concordancia total de los resultados de CIM (CIMs  $\pm 1$  dilución log<sub>2</sub>) entre 7 labs, incluyendo el LC, comparada a las CIMs modales fue **90% (232/258)**.

# Concentración Inhibitoria Mínima



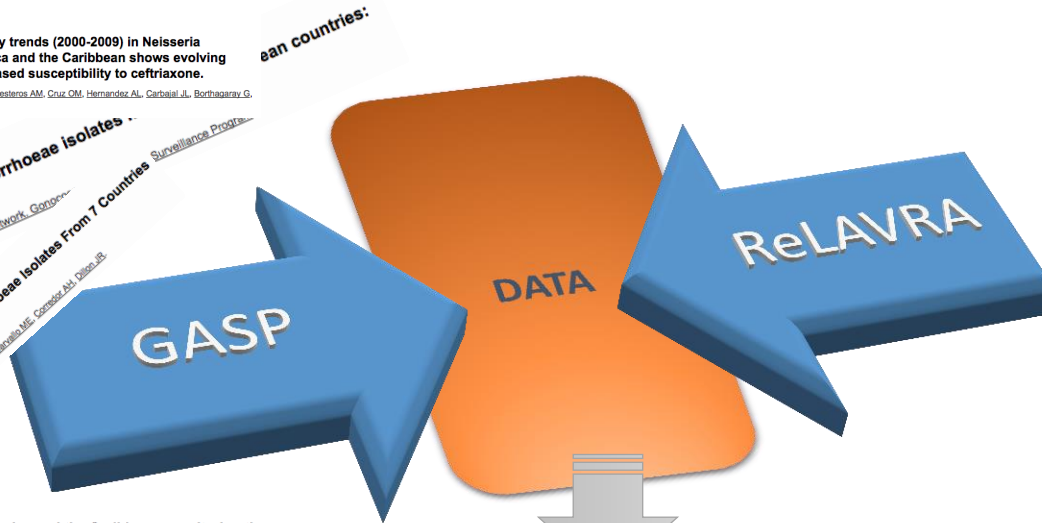
Comparación de todos los resultados de CIM para cada antibiótico, obtenidos por los laboratorios participantes, con los resultados modales de CIM, por cualquier metodología.

Antibiótico	≤ -2	-1	Igual	+1	≥ +2	Total de CIMs incluidas en el calculo	Total de CIMs +/- 1 dilución modal	Porcentaje de Concordancia (%)
Penicilina	3	9	23	4	3	42	36	86
Tetraciclina	2	10	28	8	-	48	46	96
Ciprofloxacina	-	9	22	7	1	39	38	97
Ceftriaxona	7	6	25	6	4	48	37	77
Cefixima	2	7	17	6	-	32	30	94
Azitromicina	1	9	30	6	3	49	45	92
<b>TOTAL</b>	<b>15</b>	<b>50</b>	<b>145</b>	<b>37</b>	<b>11</b>	<b>258</b>	<b>232</b>	<b>90</b>

Porcentaje de concordancia de los resultados de CIM por antibiotico

# Vigilancia de la susceptibilidad a los antimicrobianos

## FUENTES DE INFORMACION DE RAM EN NG



Sex Transm Dis. 2012 Oct;39(10):813-21.

**Retrospective analysis of antimicrobial susceptibility trends (2000-2009) in *Neisseria gonorrhoeae* isolates from countries in Latin America and the Caribbean shows evolving resistance to ciprofloxacin, azithromycin and decreased susceptibility to ceftriaxone.**

Stamiro S<sup>1</sup>, GASP/LAC Working Group, Galarza P, Carvallo ME, Benzaken AS, Ballesteros AM, Cruz OM, Hernandez AI, Carbajal JL, Borhagaray G, Payares D, Dillon JA.

ean countries:

**Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Trinidad, Guyana, and St. Vincent.**

Dillon JA<sup>1</sup>, Li H, Sealy J, Rubin M, Prabhakar P, Caribbean GASP Network, Gonorrhoea Surveillance Program.

Sex Transm Dis. 2001 Sep;28(9):908-14.

**Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from 7 countries in Latin America and the Caribbean: 2010-2011.**

Thakur SD<sup>1</sup>, Araya P, Borhagaray G, Galarza P, Hernandez AI, Echevarria D, Sanabria Cruz OM, Carvallo ME, Gomez JM, Dillon JA, Borhagaray G, Mirquez C, Fiorio S, Galarza P, Portilla JL, León L, Agudelo CI, Sanabria Cruz OM.

Sex Transm Dis. 2012.

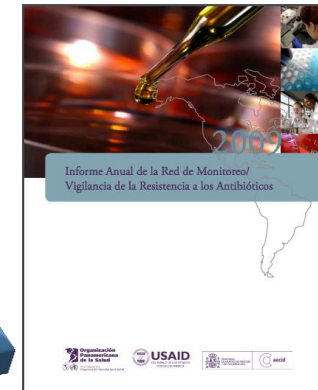
**Challenges of gonorrhoea in South America and the Caribbean: monitoring the development of resistance to antibiotics.**

**Two decades of the gonococcal antimicrobial surveillance program in South America and the Caribbean: challenges and opportunities.**

Dillon JA<sup>1</sup>, Trachsel MA, Thakur SD, Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program Network in Latin America and Caribbean 1990-2011.

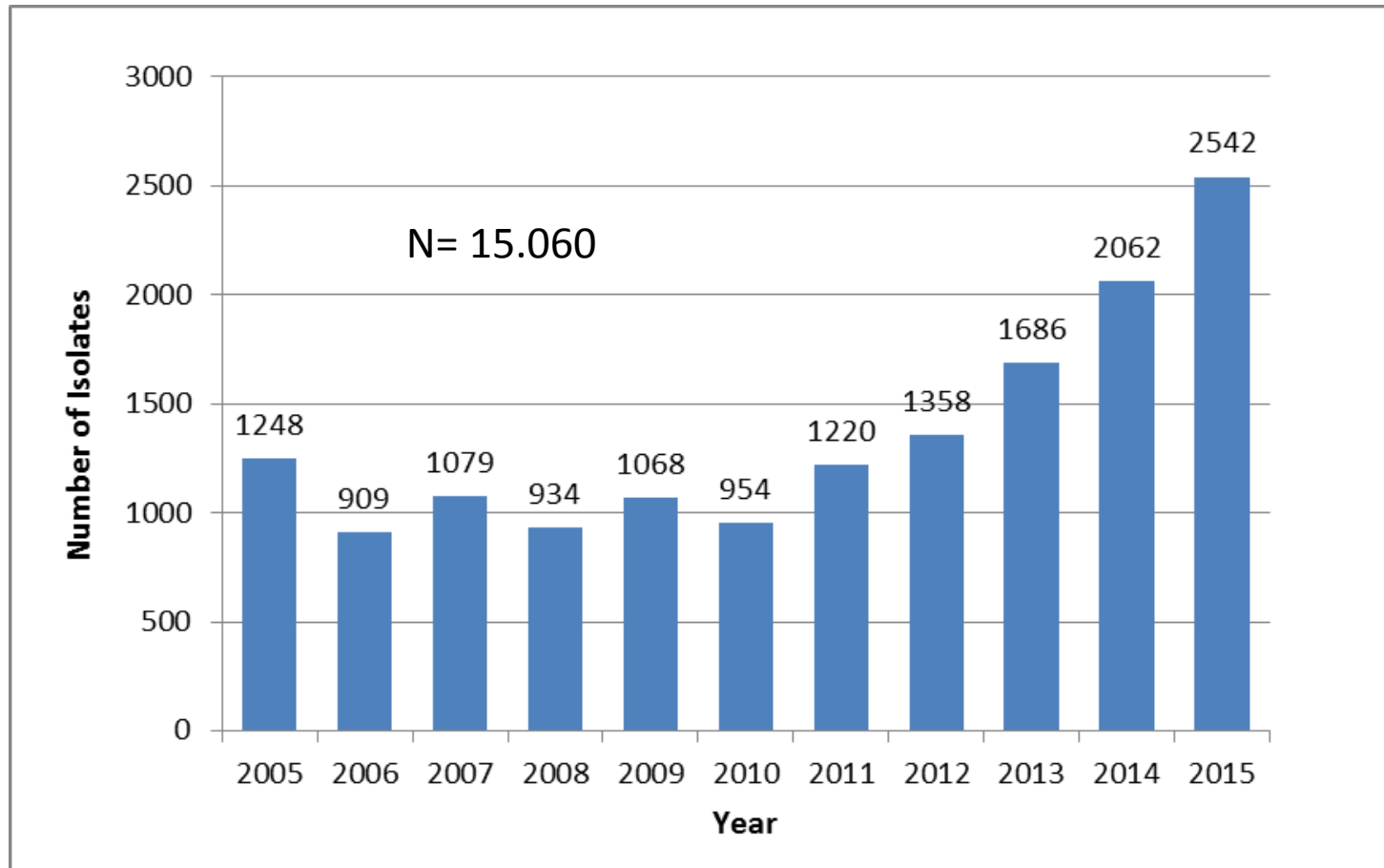
Sex Transm Infect. 2013 Dec;89 Suppl 4:iv26-41. doi: 10.1136/sti.2012.050985.

© Collaborators (21)  
 Fiorio S, Galarza P, Troncoso Carvallo ME, Benzaken AS, Pinto VM, Araya P, Maldonado A, Agudelo CI, Sanabria Cruz OM, Realme ME, Hernandez AI, Llanes R, Jarama EA, Aguayo N, Portilla JL, Prabhakar P, Borhagaray G, Acevedo A, Marquis C, Payares D, León L.



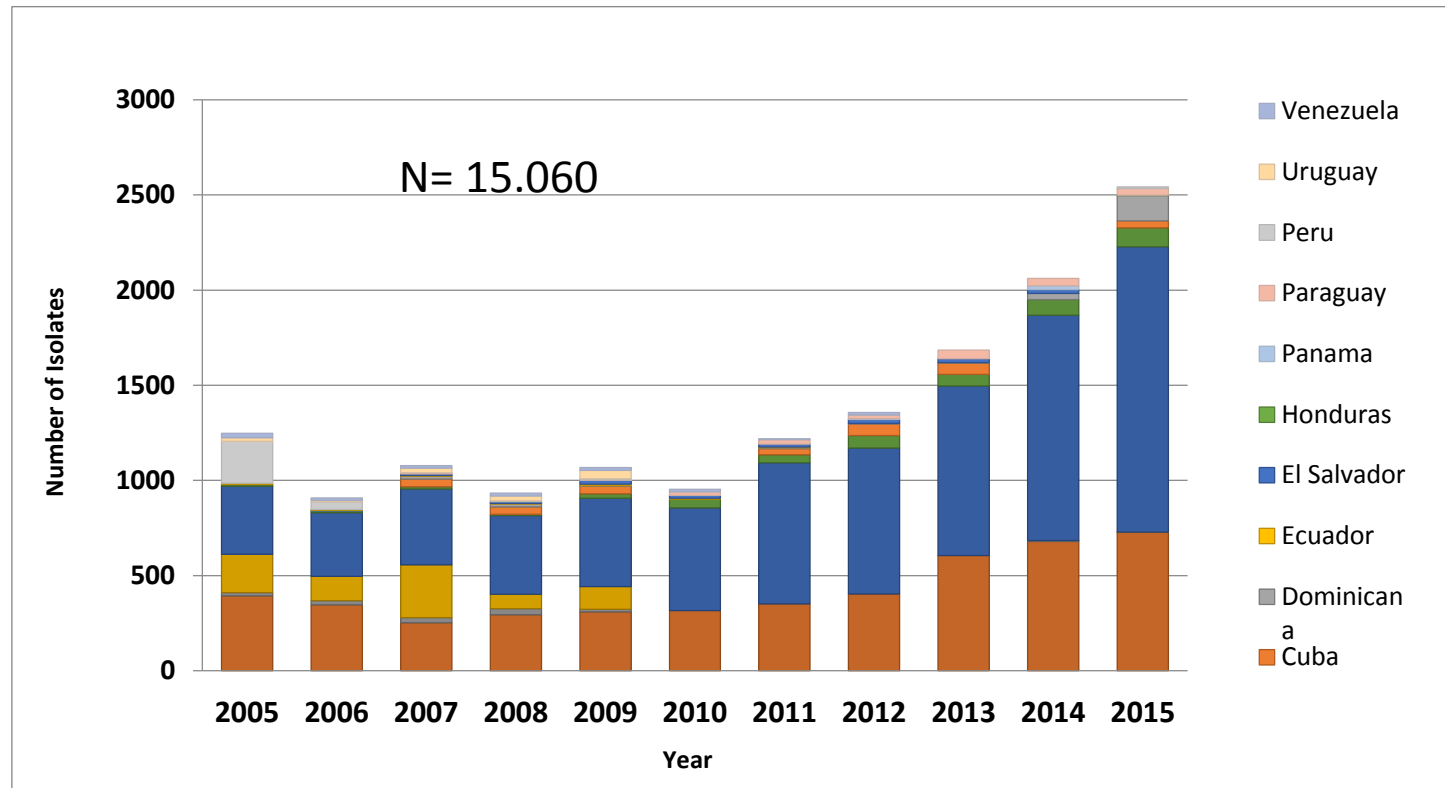
World Health Organization

# Total number of isolates tested by year (2005-2015)

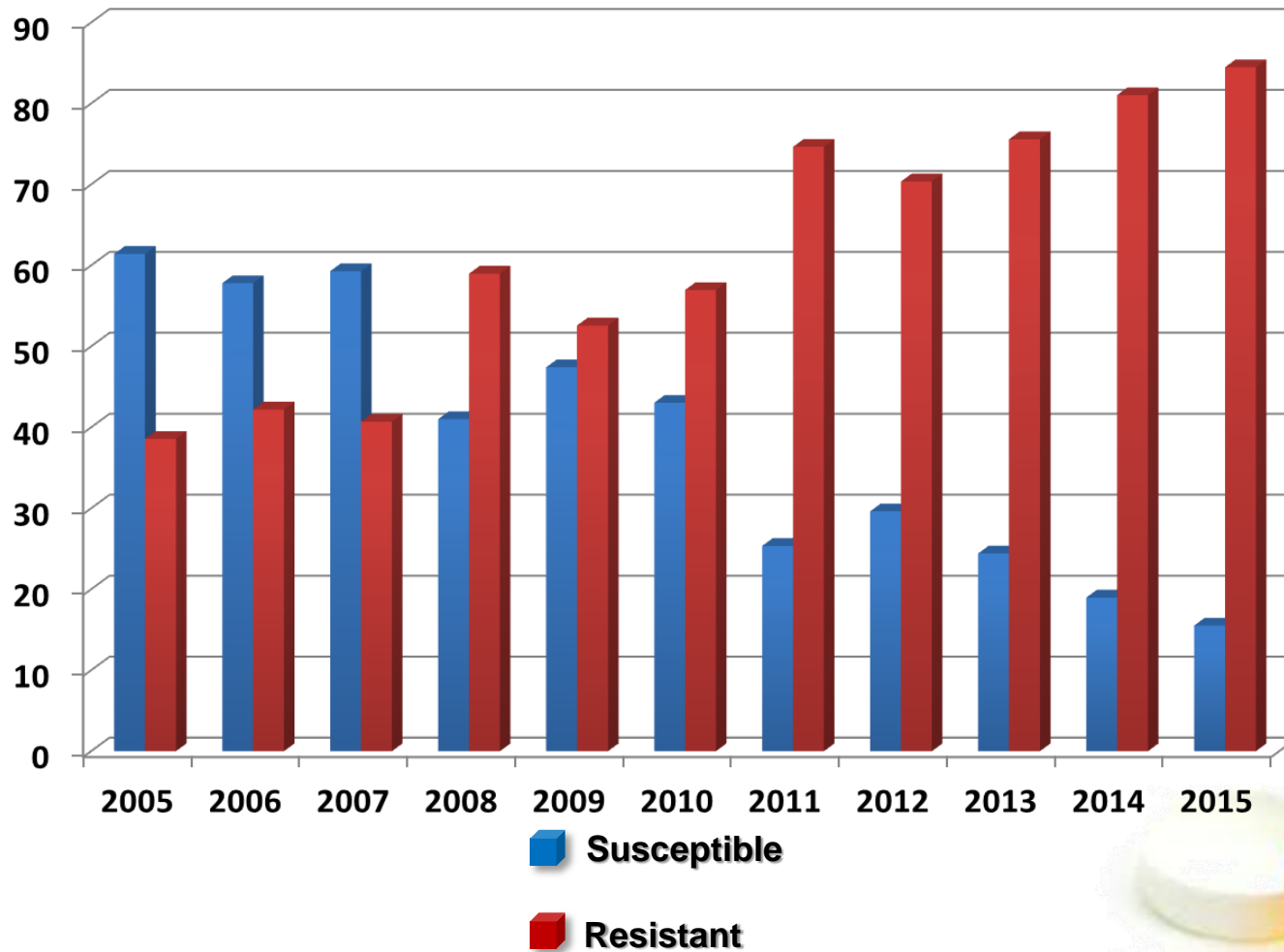




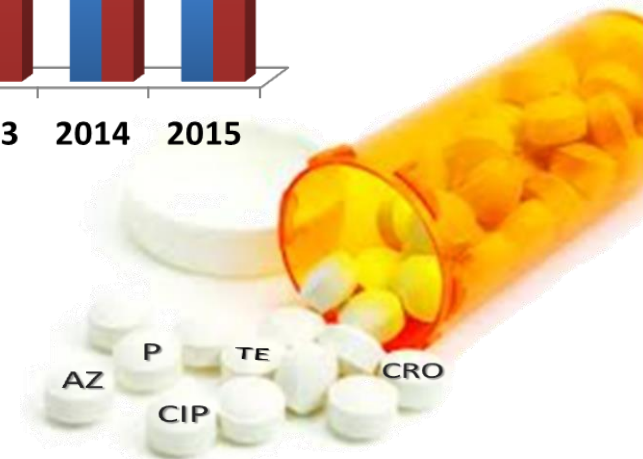
# Number of isolates by year by country



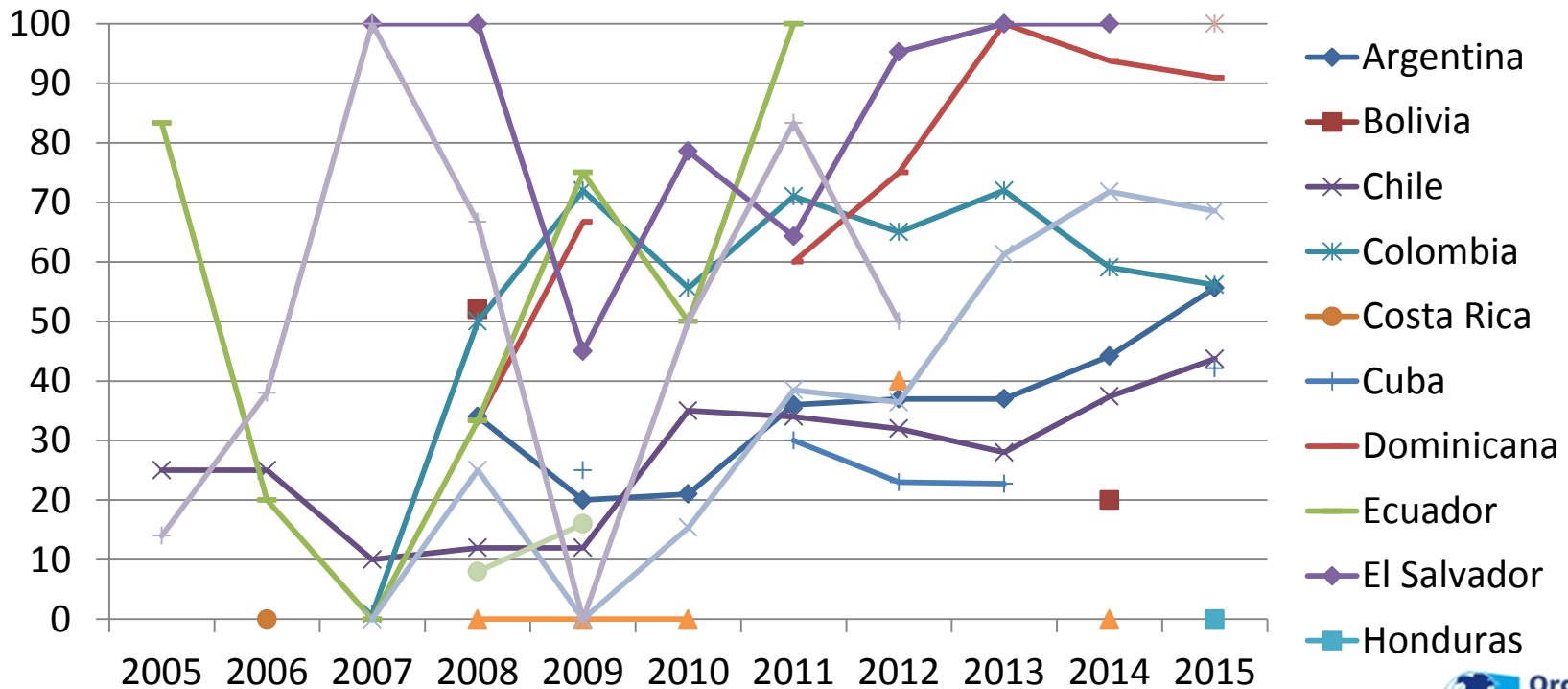
# Current Situation in Latin America?



Source: Galarza et al. PROVSAG. Argentina

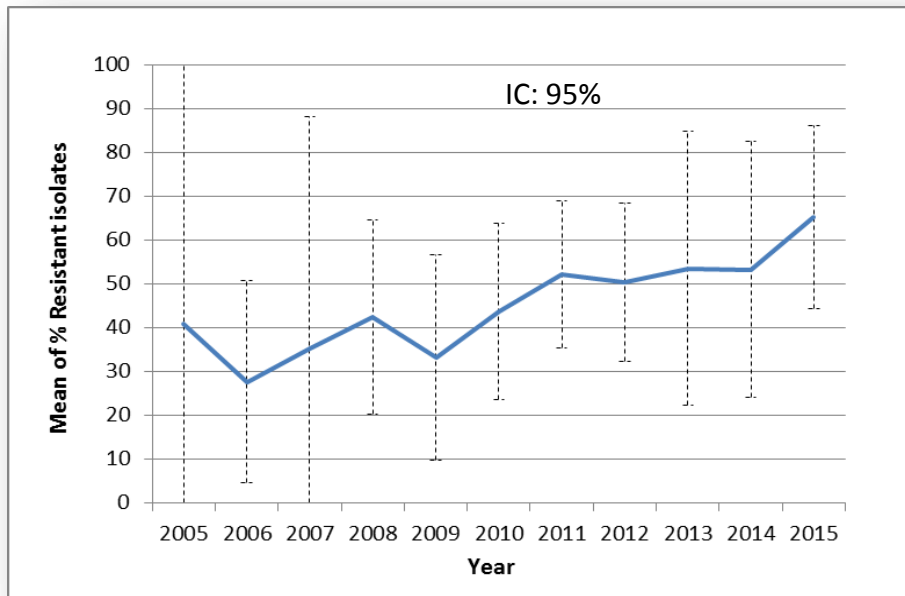


# Trends in percentages of penicillin resistant *N. gonorrhoeae* isolates by country and year

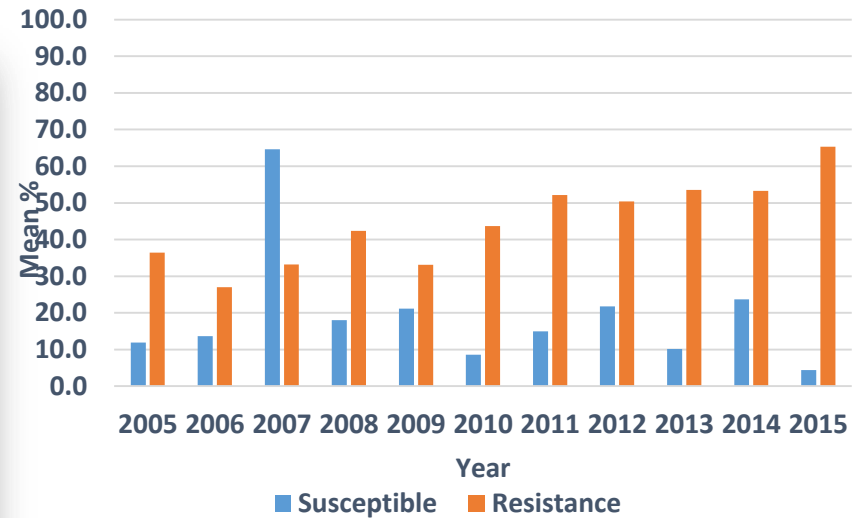


\*Sources: Dillon et al. (GASP-LAC) and RELAVRA

# *N. gonorrhoeae* penicillin resistance Latin America, selected countries, 2005 - 2015

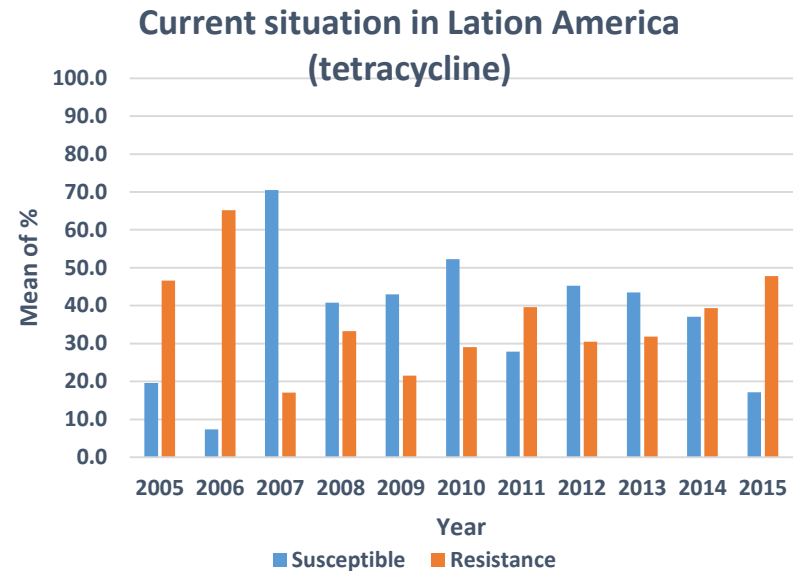
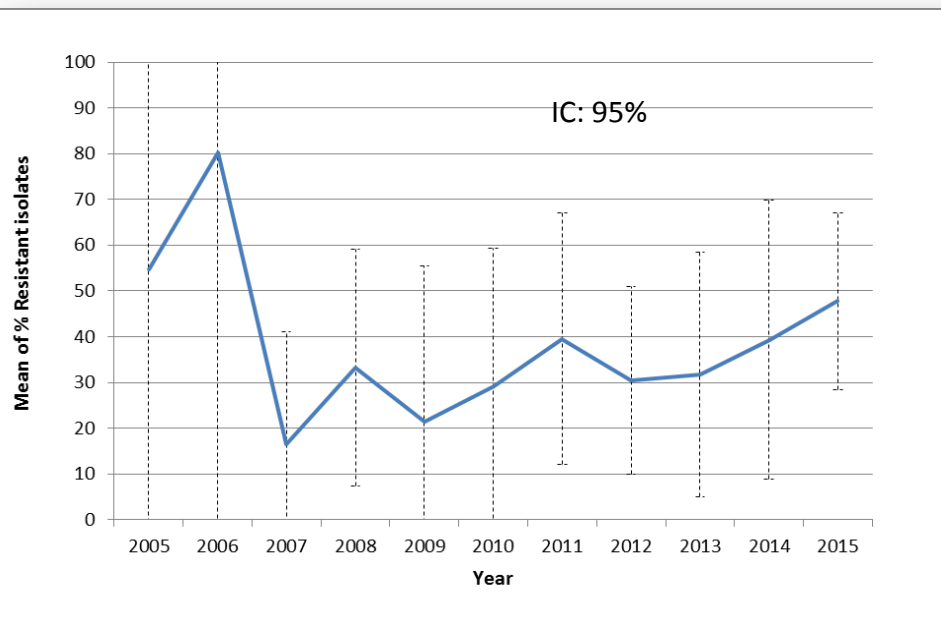


Current situation in Latin America (penicillin)



\*Sources: Dillon et al. (GASP-LAC) and RELAVRA

# *N. gonorrhoeae* tetracycline resistance Latin America, selected countries, 2005 - 2015

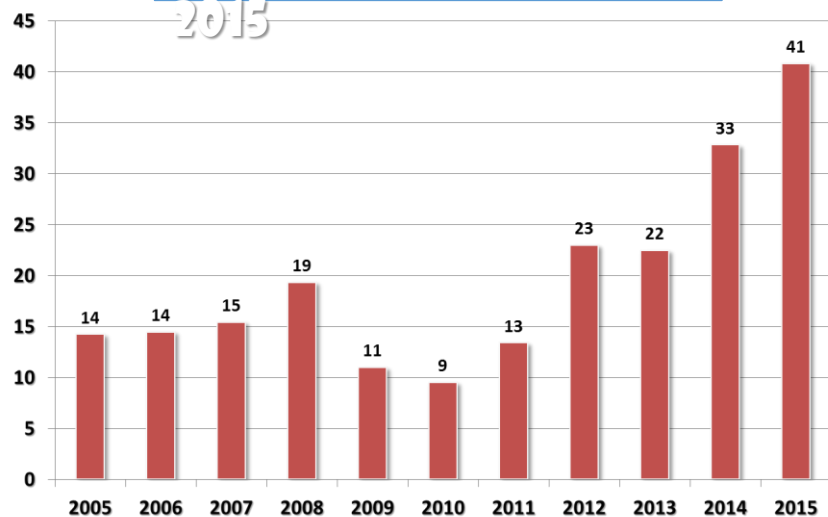


\*Sources: Dillon et al. (GASP-LAC) and RELAVRA

- In Argentina an increase of PPNG isolates was observed since 2010, ranged 9% to 41%
- Mostly by a rise of PP-TRNG associated to quinolone resistance.
- PP-TRNG isolates had decreased after 1995 when an outbreak was detected

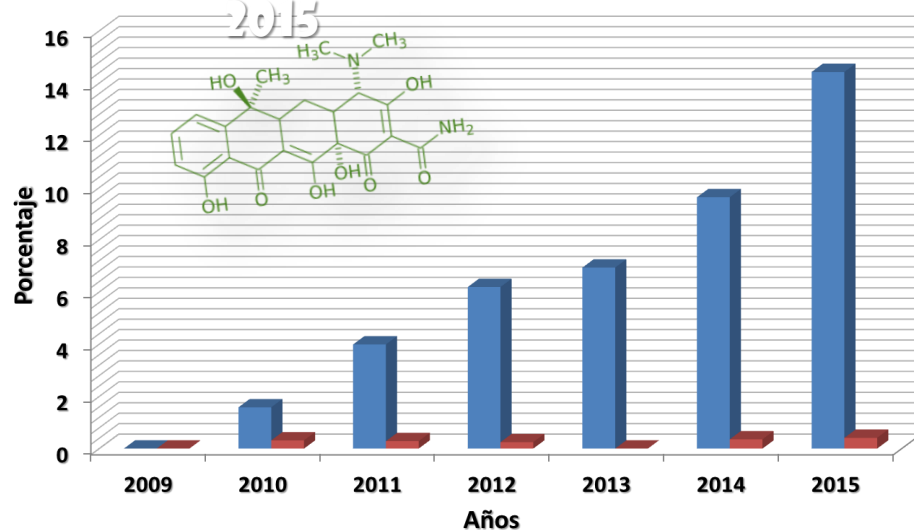
### PPNG ISOLATES 2005-

2015



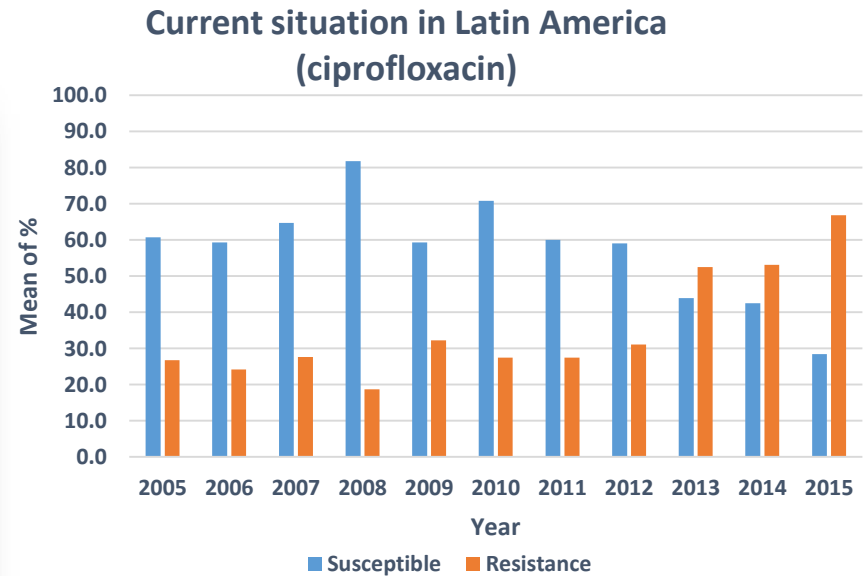
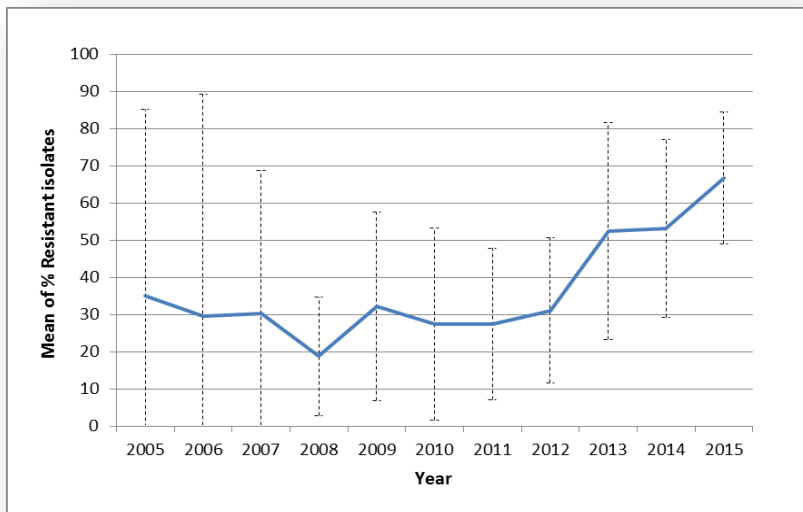
### PPTRNG ISOLATES 2009-

2015



- PPTRNG isolates resistant to ciprofloxacin
- PPTRNG isolates susceptible to ciprofloxacin

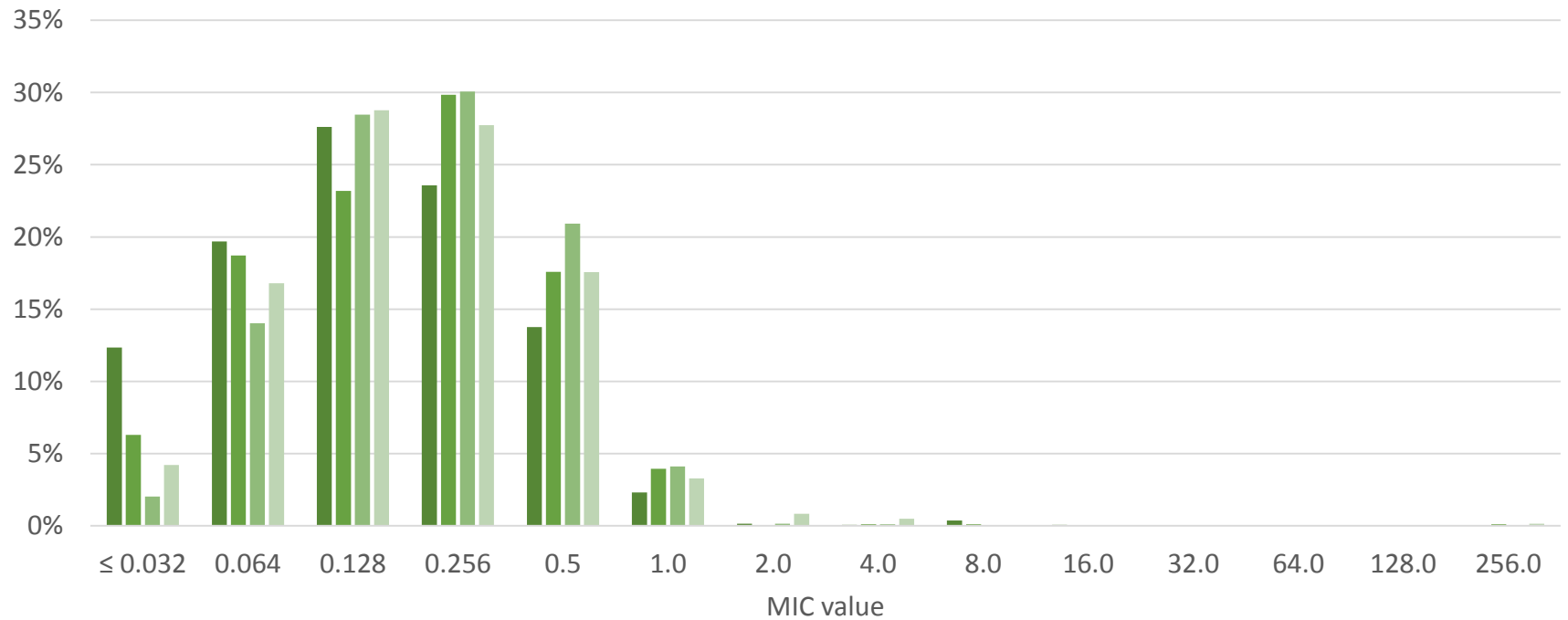
# *N. gonorrhoeae* ciprofloxacin resistance Latin America, selected countries, 2005 - 2015



# *N. gonorrhoeae*: azithromycin

Latin America, selected countries, 2005 - 2015

Azithromycin (2013-2016) CHILE-ARGENTINA-URUGUAY

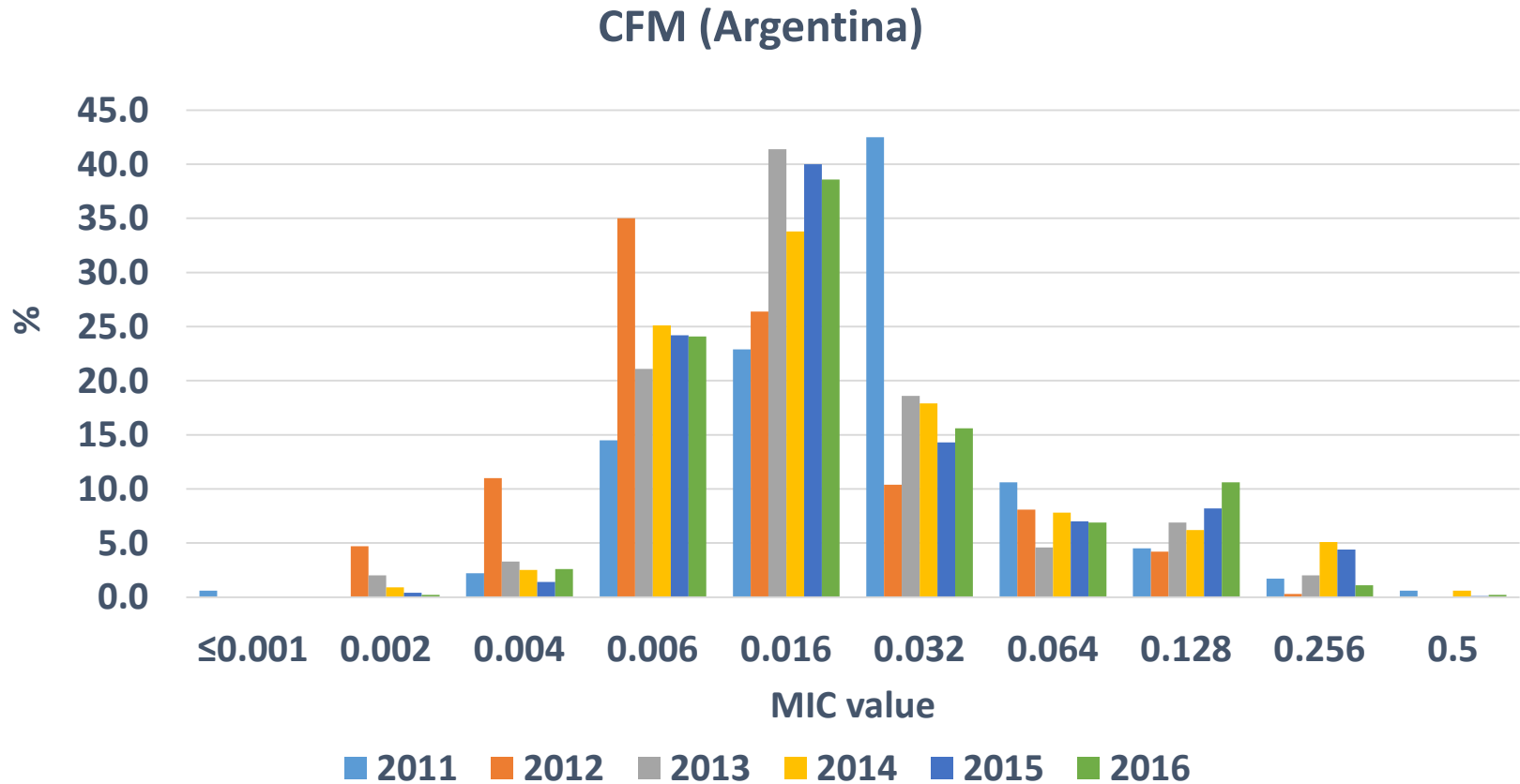


■ 2013 ■ 2014 ■ 2015 ■ 2016



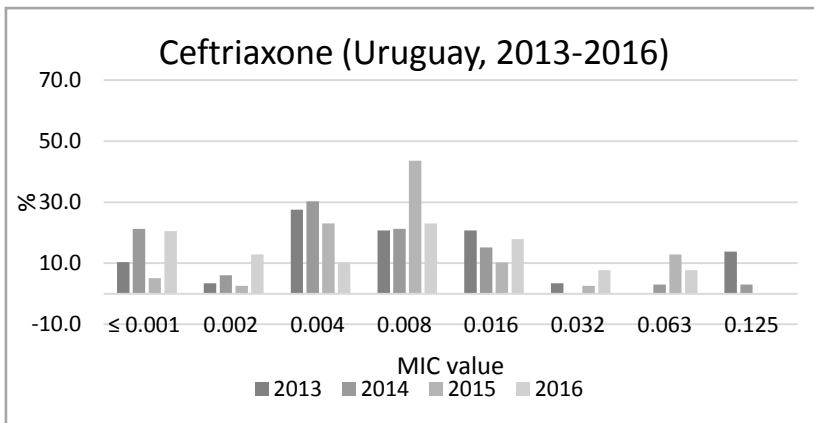
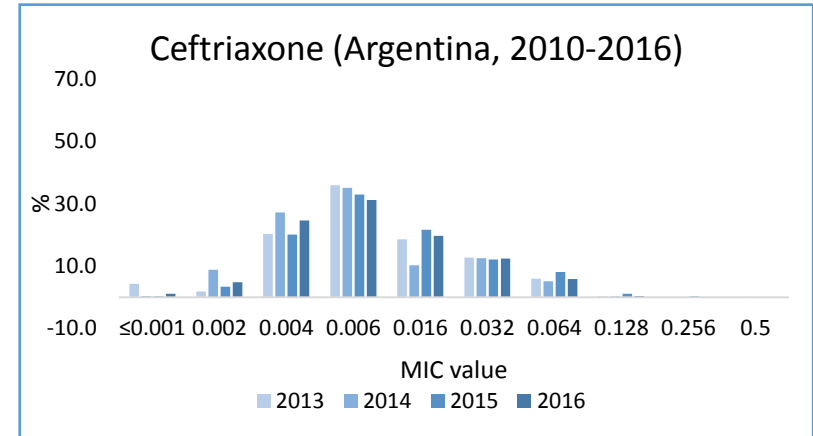
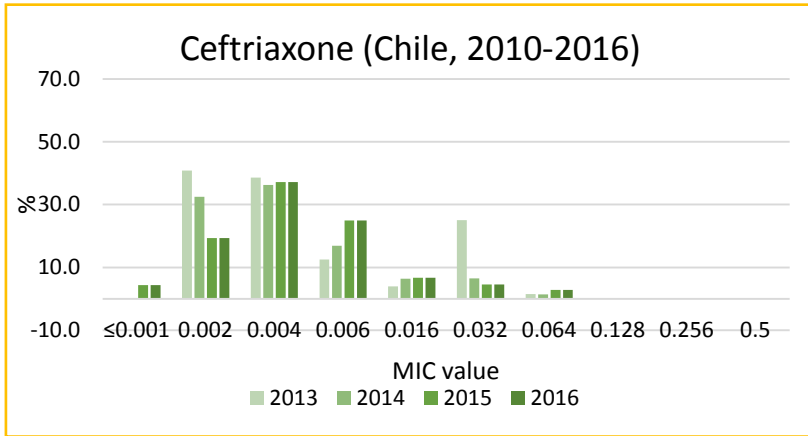
## *N. GONORRHOEAE: CEFIXIME*

- The only country testing the susceptibility to cefixime until now is Argentina
- MIC 90 changed from 0.064 mg/l in 2013 to 0.125 mg/l in 2016



## *N. gonorrhoeae*: Ceftriaxone

Latin America, selected countries, 2013 - 2016



- The susceptibility for CRO was notified by 7 countries: Argentina, Chile, Uruguay, Paraguay, Dominican Republic, Nicaragua y Peru.
- Due to the few isolates studied or the methodology used, only three countries were take a count for the analysis
- In this period overall 23 isolates with CEF MICs  $\geq 0.125$  mg/L were reported

# *N. gonorrhoeae* resistant to ESC reported

- A report from Manaus, Brazil, noted that 6% (7/120) of isolates tested in 2007 had MICs > 0.25 mg/L (1998. *Sex Transm Dis* 2001; **28**:521-6).
- Others Caribbean countries reported isolates resistant.
- In 2014, an isolate resistant to ceftriaxone and cefixime (MIC 0.5 mg/L) was studied and reported from Argentina.

Journal List > Emerg Infect Dis > v.22(6); 2016 Jun > PMC4880066



[Emerg Infect Dis](#). 2016 Jun; 22(6): 1139–1141.  
doi: [10.3201/eid2206.152091](https://doi.org/10.3201/eid2206.152091)

PMCID: PMC4880066

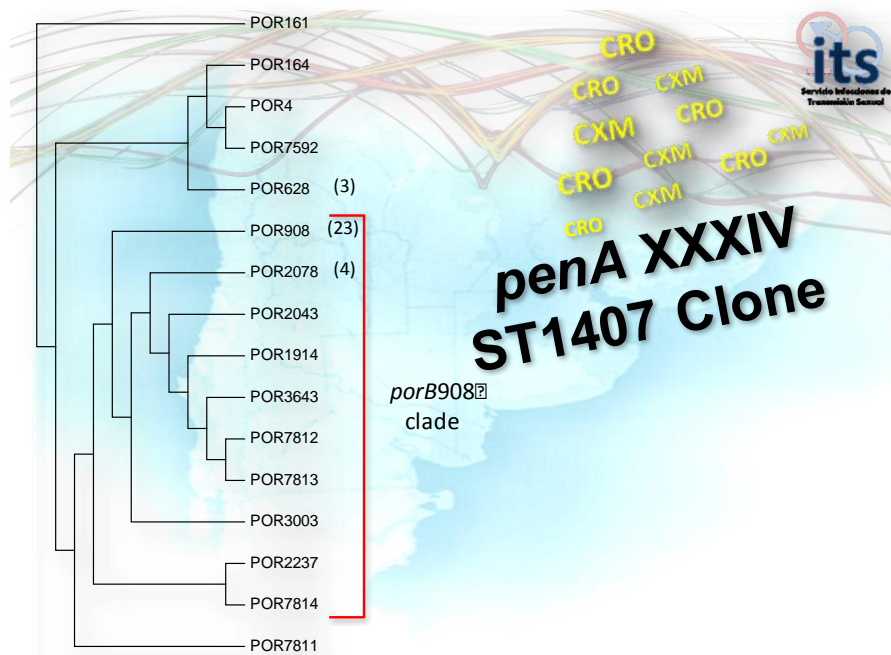
## ***Neisseria gonorrhoeae* Resistant to Ceftriaxone and Cefixime, Argentina**

[Ricardo Gianecini](#), [Claudia Oviedo](#), [Graciela Stafforini](#), and [Patricia Galarza](#)<sup>✉</sup>

[Author information](#) ▶ [Article notes](#) ▶ [Copyright and License information](#) ▶

# Epidemiología molecular regional

- Capacitación del LRR, Ariel Gianecini, en el Laboratorio de Salud Pública de Ontario, Canada.
- Primer estudio comparativo de cepas circulantes en 2015 en los extremos de la Región mediante secuenciación de genoma completo con el apoyo de OPS/OMS y LSP





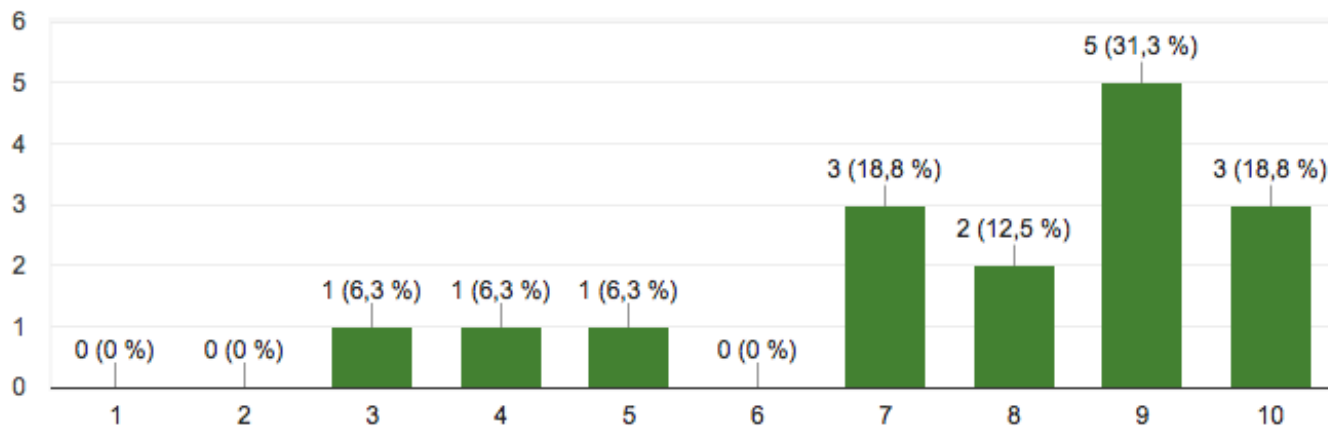
# **CONCLUSIONES: FORTALEZAS Y DESAFIOS**

- **Capacitación:** identificación de países que necesiten fortalecer las capacidades de diagnóstico y vigilancia.  
Fortaleza: Apoyo de OPS  
Reto: Seguimiento de las capacidades aprendidas y acompañamiento en la implementación
- **PCCNG:** como un pilar esencial para un efectivo programa de vigilancia con el objetivo de asegurar datos confiables a reportar.

20. ¿Ud. opina que la implementación del PCCNG-OPS en Latinoamérica fortaleció el manejo de la gonorrea en su laboratorio? Marque en la siguiente escala:



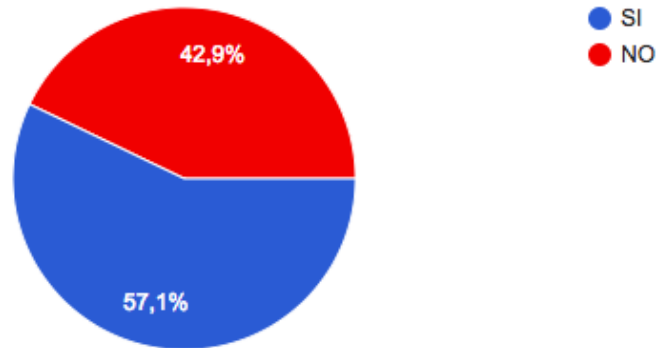
16 respuestas



- Cefalosporinas y Azitromicina continúan siendo útiles para el tratamiento de la gonorrea en LA

### 18. ¿Existen pautas nacionales de tratamiento actualizadas desde el 2015?

14 respuestas

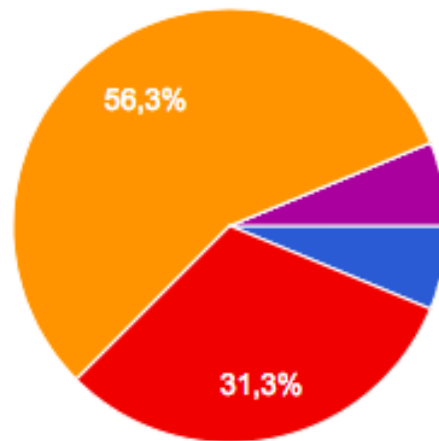


- Los aislamientos no susceptibles detectados deberían ser confirmados por el LRR antes de su reporte. Necesidad de establecer definiciones de caso.
- Estudios de epidemiología molecular son necesarios en la Region. Fortaleza: se ha comenzado a transitar este camino

- La Region debe mejorar la recuperacion de aislamientos.
- Necesidad de involucrar a los Programas de VIH/SIDA para apoyo y lineamientos

## 1. Como Laboratorio Nacional de Referencia, Ud. recibe aislamientos de *N. gonorrhoeae* como:

16 respuestas



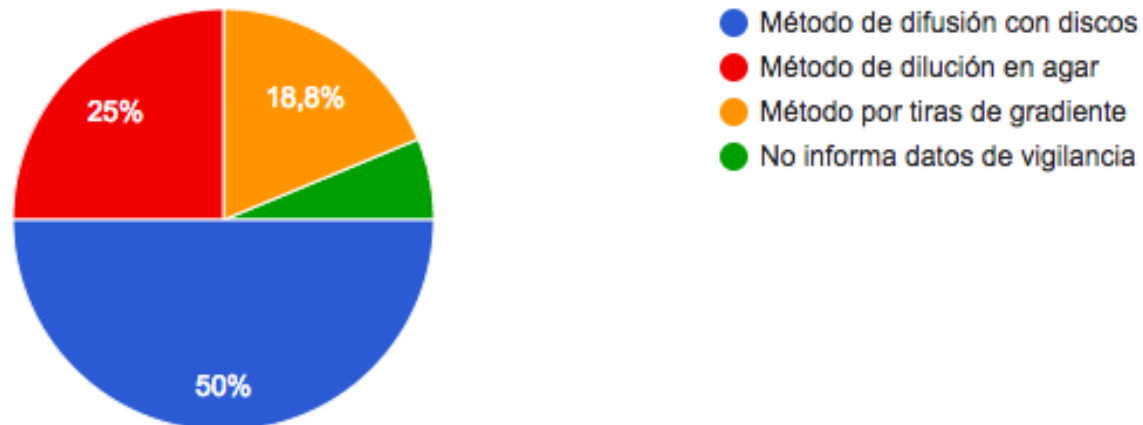
- 1-parte de proyectos pilotos o de investigación de susceptibilidad
- 2-derivación sólo para identificación y confirmación
- 3-parte de un programa nacional de vigilancia
- 4-No recibo aislamientos
- Se lleva a cabo una vigilancia en sitios centinela a través de la Estrategia VICITS en población clave



- Es necesario que mas paises implementen la determinacion de la CIM para vigilancia de NG.

### 13. ¿Con qué metodología realiza e informa la vigilancia epidemiológica de la resistencia a los antimicrobianos para *N. gonorrhoeae* en su país?

16 respuestas



# • Modificación en el reporte de datos

*Neisseria gonorrhoeae* de origen comunitario

## Prueba de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Método utilizado: Dilución en agar [ ] E-test [ ]

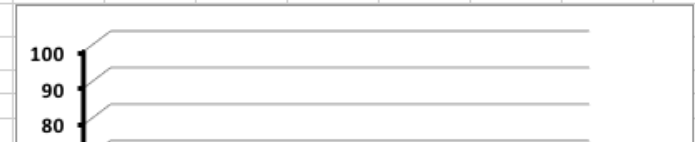
ANTIMICROBIANO	CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (µg/mL)																		
	Numero de aislamientos incluidos en cada dilucion de CIM (n)																		
	≤ 0.032	0.064	0.128	0.256	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0	64.0	128.0	≥ 256.0					
<b>PEN</b> n (todas)																			
n PPNG (solo Blac +)																			
<b>TET</b> n (todas)	≤ 0.032	0.064	0.128	0.256	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0	64.0	128.0	≥ 256.0					
n TRNG (conf. X BM)																			
<b>AZM*</b> n	≤ 0.032	0.064	0.128	0.256	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0	64.0	128.0	≥ 256.0					
<b>CIP</b> n	≤ 0.001	0.002	0.004	0.008	0.016	0.032	0.064	0.128	0.256	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0	64.0	128.0	≥ 256.0
<b>SP</b> n	≤ 0.032	0.064	0.128	0.256	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0	64.0	128.0	≥ 256.0					
<b>CRO</b> n	≤	0.00025	0.0005	0.001	0.002	0.004	0.006	0.016	0.032	0.064	0.128	0.256	0.5	1	≥ 2.0				
<b>CFM</b> n	≤	0.00025	0.0005	0.001	0.002	0.004	0.006	0.016	0.032	0.064	0.128	0.256	0.5	1	≥ 2.0				

Abreviaturas: "Blac +": beta-lactamasa positiva; "Conf. X BM": confirmados por métodos de biología molecular

\* Debido a que CLSI no desarrolló puntos de corte clínicos para AZM, se utiliza el propuesto por EUCAST (S≤0,25µg/ml; I=0,5µg/ml;

## Prueba de difusión con discos

Total Nº	Nº		Antibiótico n	Porcentaje		contenido del disco (µg)	Puntos de corte		
	Intermedia	Resistente		Intermedia	Resistente		S (mm)	I (mm)	R (mm)
			<b>PEN</b>	#iDIV/0!	#iDIV/0!	10	≥47	27-46	≤26
			<b>CIP</b>	#iDIV/0!	#iDIV/0!	5	≥41	28-40	≤27
			<b>TCY</b>	#iDIV/0!	#iDIV/0!	30	≥38	31-37	≤30
			<b>SP</b>	#iDIV/0!	#iDIV/0!	100	≥18	15-17	≤14
			<b>CFM</b>			30	≥31	-	<31
			<b>CRO</b>			30	≥35	-	<35



Nº de aislamientos no sensibles

Muchas gracias!!!!

