

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-3/08)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Pseudomonas putida*, productora de una metalobetalactamasa (MBL) de tipo VIM1. La historia clínica correspondía a una paciente de 57 años, ingresada en Oncología para tratamiento quimioterápico. Durante su estancia, presentó un cuadro de infección respiratoria, por lo que se le administró tratamiento antibiótico empírico. A pesar de la leve mejoría experimentada durante las primeras horas, la paciente sufrió un empeoramiento de su estado que motivó su traslado a la UCI. La radiografía de tórax mostró una neumonía lobar y se inició tratamiento con imipenem, a pesar de lo cual la paciente presentó fiebre de 39°C y su situación respiratoria empeoró hasta requerir ventilación mecánica. Se tomaron muestras de broncoaspirado, que fueron remitidas a Microbiología para cultivo bacteriológico convencional y estudio de micobacterias, creciendo a las 48 h la bacteria objeto de este control.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el estudio de **sensibilidad** de la cepa remitida. Así mismo, podían hacerse en la hoja de respuesta los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que se estimasen oportunos. El objetivo principal de este control fue evidenciar la capacidad de los participantes para detectar, o al menos sospechar, que la cepa del control era productora de una MBL.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 281 centros participantes, de los que remitieron hoja de respuesta 248, lo que supone un porcentaje de participación del 88,2%. Algo más de la mitad de los participantes identificaron correctamente el género y la especie (59,7%), mientras que 22 laboratorios (8,9%) informaron *Pseudomonas fluorescens /putida*, y 7 laboratorios (2,9%) informaron sólo el género (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Pseudomonas putida</i>	148	59,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45	18,1
<i>Pseudomonas fluorescens / putida</i>	22	8,9
Género <i>Pseudomonas</i>	7	2,9
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	6	2,4
<i>Burkholderia cepacia</i>	6	2,4
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	5	2,0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	0,8
<i>Escherichia coli</i>	2	0,8
Otros ^a	5	2,0
Total	248	100,0

^a*Aeromonas hydrophila*, *Chromobacterium violaceum*, *Empedobacter brevis*, bacilo gramnegativo, género *Corynebacterium*.

La mayoría de los centros (239, el 96,3%) empleó técnicas comerciales para identificar la cepa (tabla 2 y 3). Siete centros (2,9%) emplearon técnicas manuales, complementadas, en un caso, con un estudio de secuenciación.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	229	92,3
Manual + comercial	10	4,0
Manual	7	2,9
Manual + secuenciación	1	0,4
No informa	1	0,4
Total	248	100,0

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Microscan	58	24,3	44,9
Vitek/Vitek 2	78	32,7	82,0
Wider	24	10,0	41,7
Galerías API			
API 20E	5	2,1	40
API 20NE	62	26,0	87,1
API ID32GN	2	0,8	100,0
Phoenix	5	2,1	100,0
BBL Crystal	2	0,8	0,0
Sensititre	2	0,8	50,0
No especifica el sistema utilizado	1	0,4	100,0
Total	239	100,0	69,0

Los sistemas comerciales más empleados fueron Vitek/Vitek 2 (78 centros), las galerías API (69 centros), Microscan (58 centros), y Wider (24 centros). El participante con la identificación de género *Corynebacterium* realizó una identificación manual.

El Programa de Control de Calidad aceptó como válidas las identificaciones *P. putida* (respuesta óptima), así como *P. fluorescens/putida*. La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados de identificación de *Pseudomonas* con los sistemas mayoritarios.

Sistema	Número usuarios	<i>P. putida</i>	<i>P. fluorescens/putida</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Género <i>Pseudomonas</i>	Identificación aceptable
API 20NE	62	51 (82,3)	5 (8,1)	2 (3,2)	3 (4,8)	56 (90,3)
Vitek/Vitek2	78	62 (79,5)	2 (2,6)	10 (12,8)	1 (1,3)	64 (82,1)
Microscan	58	15 (25,9)	11 (19,0)	24 (41,4)	1 (1,8)	26 (44,8)
Wider	24	6 (25,0)	4 (16,7)	7 (29,2)	1 (4,2)	10 (41,7)

Los mejores resultados se obtuvieron con los sistemas API 20NE y Vitek. Así, 51 de 62 participantes que emplearon API 20NE (82,3%) remitieron la identificación óptima; en el caso de Vitek, fueron 62 de 78 (79,5%) los que identificaron *P. putida*. El sistema Microscan se reveló insuficiente para alcanzar la identificación, pues sólo 15 de 58 participantes (25,9%) remitieron la respuesta óptima, un porcentaje similar al obtenido con el sistema Wider. Además, las frecuencias de identificación de *P. aeruginosa* fueron mayores con estos dos últimos sistemas comerciales. Por último, el porcentaje de identificaciones aceptables obtenidos por API 20NE, Vitek, Microscan y Wider fueron, respectivamente, del 90,3%, 82,1%, 44,8% y 41,7%, lo que da una idea de los problemas de esta identificación con los dos últimos. Sin embargo, es curioso que la identificación *B. cepacia* (obviamente, no aceptable) se obtuvo de forma predominante con API 20NE y Crystal. No ha sido posible observar una relación entre el sistema empleado y la obtención de una de las identificaciones distintas de las especies de *Pseudomonas*.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 228 centros que realizaron una identificación mínima de género *Pseudomonas*. Dos de estos centros no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 226 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 188 (83,2%), empleándose como método único en el 70,0% de los casos. Fueron 52 (23,0%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 34 (15,0%) lo hicieron de forma única. Se realizó E-test® en 18 laboratorios (8,0%). Un participante no especificó el método empleado (tabla 5).

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
CMI por microdilución	158	70,0
Disco-placa	34	15,0
CMI + disco-placa	15	6,6
CMI + E-test®	13	5,8
CMI + disco-placa + E-test®	2	0,9
E-test®	2	0,9
Disco-placa + E-test®	1	0,4
No especificado	1	0,4
Total	226	100,0

Sobre un total de 188 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (43,1%) y Vitek/Vitek 2 (34,6%), seguidos del Wider (14,9%). Los datos se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Microscan	81	43,1
Vitek/Vitek 2	65	34,6
Wider	28	14,9
Sensititre	6	3,2
Phoenix	5	2,7
ATB Gram Negativo	1	0,5
No específica	2	1,0
Total	188	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia (tabla 6) fueron obtenidos por difusión en disco-placa, complementados con las CMI por microdilución (Microscan) y se muestran en la tabla 7. Como siempre, esta lista se incluye a título meramente informativo, como término de comparación para los participantes, sin que suponga una recomendación de uso en el tratamiento de las infecciones por esta bacteria. El laboratorio de referencia usó los criterios del CLSI correspondientes a la familia *Pseudomonas* para la interpretación de los resultados y realizó la detección de MBL mediante la prueba de la doble tira de E-test® con imipenema e imipenema + EDTA. La presencia de una MBL del tipo VIM-1 fue confirmada mediante amplificación y posterior secuenciación.

Tabla 7. Sensibilidad antibiótica de la cepa.

Antibiótico	Interpretación ^a	Antibiótico	Interpretación ^a
Ampicilina/amoxicilina	R	Imipenema	R
Amoxicilina-clavulanato	R	Meropenema	R
Piperacilina	R	Gentamicina	R
Piperacilina-tazobactam	R	Tobramicina	R
Cefoxitina	R	Amikacina	S
Cefotaxima	R	Colistina	S
Ceftazidima	R	Ciprofloxacino	R
Cefepima	R	Levofloxacino	R
Aztreonam	R		

^aR: resistente; S: sensible; I: intermedio.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia una lista de los antibióticos que consideraran que deberían ser incluidos en el estudio de sensibilidad de esta bacteria, sirviendo así como una aproximación o guía general. Desde el Programa de Control de Calidad, se considera que la adecuación de los antibióticos seleccionados por cada centro puede considerarse como un criterio añadido de la calidad que ofrece. Como en otras ocasiones, estos profesionales basaron su selección en los siguientes criterios: a) tratarse de opciones terapéuticas de primera elección, b) constituir alternativas en ciertas situaciones clínicas, c) servir como criterio adicional para la identificación precisa de la especie bacteriana, marcador fenotípico, etc. y d) para conocer la epidemiología de la resistencia en un determinado ámbito geográfico. Las distintas respuestas de los expertos se resumen en la tabla 8.

Tabla 8. Antibiograma ideal según tres profesionales.

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Imipenema	Imipenema	Imipenema
Meropenema	Meropenema	Meropenema
Piperacilina	Piperacilina	Piperacilina
Ticarcilina	Ticarcilina	
Piperacilina-tazobactam	Piperacilina-tazobactam	Piperacilina-tazobactam
Ceftazidima	Ceftazidima	Ceftazidima
Cefepima	Cefepima	
		Cefoxitina
Aztreonam	Aztreonam	Aztreonam
Gentamicina	Gentamicina	Gentamicina
Tobramicina	Tobramicina	Tobramicina
Amikacina	Amikacina	Amikacina
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	
		Levofloxacino
Colistina	Colistina	
Cotrimoxazol		Cotrimoxazol

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 22 diferentes. Los antibióticos que fueron informados por un mayor número de participantes se ajustan bastante a las necesidades terapéuticas y al "patrón ideal" que se desprende de la opinión de dos o más de los expertos: imipenema, meropenema, piperacilina, ticarcilina, piperacilina-tazobactam, ceftazidima, cefepima, aztreonam, gentamicina, tobramicina, amikacina, ciprofloxacino, colistina y cotrimoxazol.

A pesar de las coincidencias mayoritarias, se debe señalar que se observó una notable dispersión en los antibióticos probados pues, en el total de participantes, se contabilizaron datos para 45 antibióticos diferentes, incluyendo algunos no indicados para *P. putida*, como penicilina, rifampicina, eritromicina, clindamicina o nitrofurantoína, entre otros.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla 9 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue igual o superior a 35.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Imipenema	205	3 (1,5)	–	202 (98,5)	–
Meropenema	133	–	–	133 (100,0)	–
Ticarcilina	43	–	–	43 (100,0)	–
Piperacilina	41	–	–	41 (100,0)	–
Piperacilina-tazobactam	170	1 (0,6)	2 (1,2)	167 (98,2)	–
Aztreonam	120	1 (0,8)	2 (1,7)	117 (97,5)	–
Cefepima	133	–	–	133 (100,0)	–
Cefotaxima	47	–	–	47 (100,0)	–
Ceftazidima	215	1 (0,5)	–	214 (99,5)	–
Gentamicina	166	5 (3,0)	11 (6,6)	150 (90,4)	–
Tobramicina	174	14 (8,0)	41 (23,6)	118 (67,8)	1 (0,6)
Amikacina	220	219 (99,5)	–	1 (0,5)	–
Ciprofloxacino	192	2 (1,0)	–	190 (99,0)	–
Levofloxacino	57	–	2 (3,5)	55 (96,5)	–
Cotrimoxazol	73	2 (2,7)	–	71 (97,3)	–
Colistina	144	143 (99,3)	–	–	1 (0,7)

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia para todos los antibióticos, a excepción de la tobramicina, en la que se observó una moderada discrepancia entre los diferentes centros.

DETECCIÓN DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA

Como ya se ha indicado, el objetivo principal de este control fue comprobar si los participantes eran capaces de detectar, o al menos sospechar, que la cepa, aislada en un contexto de una neumonía intrahospitalaria, era productora de MBL, así como evaluar la interpretación del fenotipo de resistencia resultante (resistencia a las carbapenemas). Dicho objetivo se justificaba por la creciente frecuencia de aislamiento, aunque por el momento baja, de cepas MBL en nuestro país, así como por la coexistencia en *Pseudomonas* de varios mecanismos de resistencia a los betalactámicos que pueden hacer difícil la interpretación de un determinado fenotipo. Además, puesto que los determinantes de MBL están albergados en elementos genéticos móviles en los que coexisten otros que expresan resistencia a otros grupos de antibióticos, está claro que estas cepas pueden plantear graves problemas de tratamiento en el futuro. En suma, parece obligado que los laboratorios de microbiología españoles estén preparados para reconocer y detectar estas cepas.

Aunque, a primera vista, los resultados pueden ser considerados como pobres, ya que solamente el 16,1% de los centros informaron de la presencia (o la posibilidad) de que la cepa problema fuese productora de MBL, la valoración que hace el Programa es más positiva, y ello por varias razones. En primer lugar, porque la presencia de cepas de *Pseudomonas* productoras de MBL no deja de ser un mecanismo minoritario de resistencia a las carbapenemas (y a otros betalactámicos). Además, la coexistencia de dos mecanismos de resistencia a estos antibióticos hacía difícil interpretar el fenotipo a menos que se dispusiese de técnicas específicas de detección y, en este sentido, se recuerda que la cepa no era sensible al aztreonam, lo que hubiera facilitado la sospecha de una carbapenemasa MBL. También hay que tener en cuenta que el aislamiento de este tipo de cepas se circunscribe esencialmente a hospitales de tercer nivel y éstos constituyen una parte menor dentro del espectro de laboratorios participantes en el Programa. Por último, salvo casos anecdóticos, la mayoría de centros detecta correctamente el perfil de sensibilidad antibiótica, y algunos hacen el comentario –evidente– de la multiresistencia, lo que indica indirectamente que sospechaban algo poco habitual. Sin embargo, este control claramente pone de manifiesto la necesidad de mejora, lo que sin duda se producirá progresivamente, como ya ha ocurrido en otras facetas del Programa, por ejemplo en la detección de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). También alerta sobre la conveniencia de que los laboratorios dispongan de técnicas y herramientas que faciliten la detección de carbapenemasas, algunas de ellas de fácil implantación en la mayoría de laboratorios.

Tabla 10. Resultados de la detección de la producción de MBL.

Característica especial	Número	%
Cepa productora de MBL	29	11,7
Probable cepa productora de MBL	11	4,4
Presencia de varios mecanismos de resistencia	4	1,6
Betalactamasa cromosómica AmpC+alteración de la permeabilidad	1	0,4
Perfil no asociado a la presencia de BLEE	1	0,4
Resistencia a carbapenemas	1	0,4
Cepa multiresistente	34	13,7
Sin información específica	167	67,3
Total	248	100,0

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, se obtuvieron los siguientes datos: 243 laboratorios (98,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 3 centros (1,2%) declararon haberlo requerido y 1 centro (0,4%) lo utilizó parcialmente. Hubo una respuesta (0,4%) que no aportó información al respecto.

COMENTARIOS

Como se ha señalado anteriormente, algunos participantes (40 centros) comentaron que se trataba de una cepa productora de MBL, o al menos, mencionaron esta posibilidad. De éstos, unos pocos centros añadieron que habían realizado la prueba de la doble tira del E-test® con imipenema-imipenema + EDTA. Dos centros especificaron que esta MBL era de tipo VIM. Otros participantes (34 centros) comentaron que se trataba de una bacteria multirresistente.

Otros comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas, principalmente la retirada del tratamiento con imipenema, sustituyéndolo con amikacina o colistina, junto con el aislamiento del paciente.