

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-4/15

En el Análisis de Resultados del presente control se analizan los resultados obtenidos en el estudio bacteriológico de la muestra enviada para control externo. Se trató de un liófilo preparado por el Programa de Control de Calidad Externo SEIMC (Programa CCS) a partir de una cepa bacteriana de reserva que había sido debidamente almacenada y, cuyo estudio, fue realizado por laboratorios expertos (externos) que actuaron de referencia para el Programa CCS. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de la muestra a través de ensayos realizados tras la preparación de los liófilos y tras su envío, asegurando así la validez de la misma.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, quienes emplearon métodos con sensibilidad y especificidad adecuadas para cada determinación. Además, la identificación fue refrendada mediante estudio de secuenciación. Estos laboratorios expertos colaboran con el Programa CCS mediante la firma de acuerdos.

Este Análisis de Resultados ha sido elaborado por especialistas en Microbiología y Parasitología.

La confidencialidad de todos los resultados está asegurada a través de la firma de Compromisos de Confidencialidad por parte de todo el personal del Programa CCS y de sus colaboradores.

### INTRODUCCIÓN

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa. La historia clínica correspondía a un paciente varón de 57 años de edad, diagnosticado de linfoma no Hodgkin, que era ingresado en la Unidad de Cuidados Intensivos, tres semanas después de haber recibido un ciclo de quimioterapia, por un importante deterioro de la función respiratoria, que requirió intubación y ventilación mecánica. Tras instaurar un tratamiento antibiótico empírico, se observó ligera mejoría clínica inicial pero, al cuarto día de intubación sufrió un acusado empeoramiento de su estado, con fiebre de 39,5°C y deterioro de los parámetros respiratorios. Se tomaron muestras de secreciones bronquiales, las cuales presentaban un aspecto purulento y habían aumentado en cantidad, y fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y micológico, creciendo a las 24 h de incubación la cepa que es objeto de este control.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el **estudio de sensibilidad** de la cepa remitida. Así mismo, podían hacerse los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que se estimasen oportunos.

### VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Klebsiella pneumoniae* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo) productora de una beta-lactamasa AmpC plasmídica inducible (característica fenotípica

especial de referencia). La identificación se realizó mediante pruebas bioquímicas (VITEK® 2, bioMérieux) y confirmó por secuenciación del ARN ribosómico 16S. Además, la detección de la característica fenotípica especial se realizó mediante métodos fenotípicos y genotípicos.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos por microdilución (panel Sensititre® ENN2F, TREK Diagnostic) y se muestran en la tabla 1. 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. Se emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes a la familia *Enterobacteriaceae* para la interpretación de los resultados.

**Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.**

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		CLSI	EUCAST
Ampicilina	>16	R	R
Amoxicilina-clavulanato	>16	R	R
Piperacilina-tazobactam	64/4	I	R
Cefotaxima	16	R	R
Ceftazidima	32	R	R
Cefepima	≤1	S	S
Imipenem	≤1	S	S
Meropenem	≤1	S	S
Ertapenem	1	I	I
Ciprofloxacino	>2	R	R
Cotrimoxazol	>4/76	R	R
Gentamicina	≤1	S	S
Tobramicina	32	R	R
Amikacina	≤4	S	S
Tigeciclina	≤0,5	S	S

<sup>a</sup>S: sensible, R: resistente, I: intermedio

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 237 centros inscritos en Bacteriología, de los que 217 remitieron hoja de respuesta. Un centro no informó ninguna identificación, por lo que hubo 216 respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 91,1%, similar al del último control (89,9%).

## IDENTIFICACIÓN

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*K. pneumoniae*). Como se puede observar en la tabla 2, todos los centros excepto uno (99,5%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control, mientras que el centro restante (0,5%) informó género *Klebsiella*.

**Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.**

Identificación	Número	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	215	99,5
Género <i>Klebsiella</i>	1	0,5
Total	216	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 86,1% de los centros (186), emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 143 (66,2%) las usaron como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por el 23,2% de los participantes, siendo empleada como único método diagnóstico en el 12,5% de las ocasiones. Las pruebas manuales fueron usadas por 21 laboratorios (9,8%), en dos de ellos (0,9%) de forma única. Por último, dos laboratorios (0,9%) identificaron la cepa mediante un estudio de secuenciación. Hubo un único participante (0,5%) que no aportó información de esta premisa. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

**Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.**

Método	Número	%
Comercial	143	66,2
Espectrometría de masas	27	12,5
Comercial + espectrometría de masas	20	9,3
Manual + comercial	17	7,8
Comercial + PCR	2	0,9
Manual	2	0,9
Manual + comercial + espectrometría de masas	2	0,9
Comercial + secuenciación	1	0,5
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	216	100,0

Los sistemas comerciales utilizados en la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron los paneles de MicroScan (93 centros), seguidos del VITEK® 2 (66 centros) y del Maldi-Tof (50 centros,

agrupando Bruker y VITEK® MS). Todos estos sistemas comerciales obtuvieron unos excelentes resultados. El centro que informó únicamente del género empleó una tarjeta de VITEK® 2.

**Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MicroScan (Beckman Coulter)	93	39,9	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	66	28,3	98,5
Maldi-Tof (Bruker y VITEK® MS)	50	21,5	100,0
Phoenix™ (Becton Dickinson)	9	3,9	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	9	3,9	100,0
Galerías API® (bioMérieux)			
API® 20 E	3	1,3	100,0
API® 10 S	1	0,4	100,0
ID 32 GN	1	0,4	100,0
BBL™ Crystal™ (Becton Dickinson)	1	0,4	100,0
Total	233	100,0	99,6

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 216 centros que realizaron una identificación mínima de género *Klebsiella*. De ellos, únicamente un centro no realizó el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 215 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 204 (94,9%), empleándose como método único en el 63,7% de los casos. Hubo 62 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (28,8%), de los que 6 (2,8%) lo hicieron de forma única. Fueron 33 (15,4%) los centros que emplearon las tiras de gradiente de concentración, en todos los casos combinadas con otros métodos de sensibilidad (tabla 5).

**Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución	137	63,7
Microdilución + disco-placa	37	17,2
Microdilución + disco-placa + tiras gradiente concentración	16	7,5
Microdilución + tiras gradiente concentración	14	6,5
Disco-placa	6	2,8
Disco-placa + tiras gradiente concentración	3	1,4
No informa	2	0,9

Total	215	100,0
-------	-----	-------

Sobre un total de 204 respuestas, los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante el método de microdilución fueron los sistemas automatizados MicroScan (52,0%) seguido del VITEK® 2 (35,7%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas para la obtención de la CMI mediante microdilución.**

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	106	52,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	73	35,7
Wider® (Soria Melguizo)	14	6,9
Phoenix™ (Becton Dickinson)	10	4,9
Sensititre® (Thermo Scientific)	1	0,5
Total	204	100,0

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes que categorizaran tal cual el valor obtenido en el antibiograma (halo inhibición o CMI) y, en el caso de que quisieran realizar una lectura interpretada de los resultados para alguno de los antibióticos, que ésta la consignaran en el apartado de comentarios y no en la tabla de respuesta. Además, tenían que informar qué criterios de puntos de corte habían utilizado para la interpretación de su antibiograma. Así, de los 215 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Klebsiella*, 121 (56,3%) emplearon los criterios del CLSI, otros 91 (42,3%) los del EUCAST y otros 2 (0,9%) según la bibliografía. Por último, hubo un centro (0,5%) que envió la cepa a un laboratorio externo, no aportando información al respecto. Estos datos se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.**

Criterio	Número	%
CLSI	121	56,3
EUCAST	91	42,3
Bibliografía	2	0,9
No informan	1	0,5
Total	215	100,0

En la tabla 8 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue igual o superior a 30. En total, se han recibido resultados correspondientes a 40 antibióticos diferentes.

**Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Número	Categorización <sup>a</sup>			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Ampicilina	132	0	0	132 (100,0)	0
Amoxicilina-clavulanato	203	0	0	203 (100,0)	0
Piperacilina-tazobactam	119	13 (10,9)	31 (26,1)	75 (63,0)	0
Aztreonam	70	5 (7,1)	11 (15,7)	54 (77,2)	0
Cefuroxima	91	0	0	91 (100,0)	0
Cefoxitina	100	0	0	99 (99,0)	1 (1,0)
Cefotaxima	183	4 (2,2)	5 (2,7)	174 (95,1)	0
Ceftazidima	152	2 (1,3)	1 (0,7)	148 (97,3)	1 (0,7)
Cefepima	163	120 (73,6)	10 (6,2)	32 (19,6)	1 (0,6)
Ertapenem	140	23 (16,5)	43 (30,7)	74 (52,8)	0
Imipenem	192	166 (86,5)	10 (5,2)	15 (7,8)	1 (0,5)
Meropenem	73	70 (95,9)	0	2 (2,7)	1 (1,4)
Gentamicina	194	193 (99,5)	1 (0,5)	0	0
Tobramicina	96	2 (2,1)	5 (5,2)	89 (92,7)	0
Amikacina	140	84 (60,0)	51 (36,4)	5 (3,6)	0
Ciprofloxacino	194	0	0	194 (100,0)	0
Cotrimoxazol	122	0	0	122 (100,0)	0
Tigeciclina	77	71 (92,2)	6 (7,8)	0	0
Colistina	36	35 (97,2)	0	0	1 (2,8)

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

Los antibióticos informados por los participantes para los que no se dispone de valor asignado no son evaluados por parte del Programa CCS, por lo que aparecen en este AR sólo a modo informativo, sin efectos de comparación. En todos los casos los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente) fueron considerados como no aceptables por parte del Programa CCS.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado para la mayoría de los antibióticos. Las principales discrepancias entre los centros se obtuvieron con la amikacina, ertapenem y piperacilina-tazobactam. Respecto a la amikacina, la gran mayoría de los centros obtuvieron una CMI  $\leq 8$   $\mu\text{g/mL}$ , aunque muchos de ellos cambiaron la interpretación de la amikacina a intermedio o resistente debido a que la cepa presentaba resistencia a la tobramicina. En cuanto al ertapenem, bastantes laboratorios obtuvieron una CMI entre 1 (intermedio según CLSI y EUCAST) y 2  $\mu\text{g/mL}$  (resistente según ambos comités). Y por último, respecto a la piperacilina-tazobactam, la mayoría de los centros obtuvieron una CMI de 64  $\mu\text{g/mL}$ , valor que sería intermedio según CLSI, pero resistente según los criterios del EUCAST.

## CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

La cepa de *K. pneumoniae* era productora de una beta-lactamasa AmpC plasmídica inducible. Sobre la cepa a estudio se realizaron diversas PCR para la detección de las beta-lactamasas más frecuentes. Así, la AmpC que presentaba era de tipo DHA, detectándose además la presencia de las beta-lactamasas SHV y OXA-1.

Asimismo se descartó, mediante PCR, los siguientes tipos de beta-lactamasas:

- Beta-lactamasa de espectro extendido de tipo CTX-M, TEM y OXA-2.
- Carbapenemasas de clase A: GES, IMI, NMC, Sme, KPC.
- Carbapenemasas de clase B: IMP, VIM, NDM, KHM, SPM, y GIM.
- Carbapenemasas de clase D: OXA-48.

Los comentarios acerca del mecanismo de resistencia de la cepa remitida se han resumido en la tabla 9. Algo más de la mitad de los participantes (116 centros, el 53,7%) informaron correctamente que era productora de AmpC. Hay que matizar que nueve de estos centros (el 4,2%) informaron como mecanismo de resistencia la hiperproducción de AmpC cromosómica o la desrepresión de la misma, lo que no sería correcto, debido a que *Klebsiella* es una enterobacteria que no produce AmpC cromosómica. Por el contrario, 63 de los 116 centros comentaron explícitamente que dicha cepa producía una cefamicinasa (AmpC) plasmídica.

Respecto al resto de mecanismos de resistencia, la producción de BLEE fue informada por 57 centros (el 26,4%), mientras que la alteración de la permeabilidad (o pérdida de porinas) fue comentada por 23 centros (10,7%). Por último, 26 centros (12,0%) comentaron que la cepa era productora de una carbapenemasa.

**Tabla 9. Detección de la característica fenotípica especial.**

Mecanismo	Número	%
AmpC	77	35,6
BLEE	21	9,7
BLEE + AmpC	17	7,8
Carbapenemasa	14	6,5

AmpC + alteración permeabilidad	13	6,0
BLEE + carbapenemasa	9	4,2
BLEE + AmpC + alteración permeabilidad	5	2,3
BLEE + alteración permeabilidad	4	1,9
AmpC + carbapenemasa	2	0,9
BLEE + AmpC + carbapenemasa	1	0,5
Hiperproducción SHV-1 + AmpC	1	0,5
Hiperproducción SHV-1 + alteración permeabilidad	1	0,5
No informan	51	23,6
Total	216	100,0

## UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, de los 216 participantes que enviaron hoja de respuesta se obtuvieron los siguientes datos: 202 laboratorios (93,6%) afirmaron no haberlo utilizado, 7 centros (3,2%) declararon haberlo requerido y otros 7 centros (3,2%) lo utilizaron parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente en la característica especial, destacan los que se referían a descartar la presencia de una posible carbapenemasa. Así, 19 participantes comentaron que el test de Hodge había sido negativo, mientras que 15 señalaron que realizaron PCR para la detección de carbapenemasa (principalmente con el sistema GeneXpert®) con resultado negativo. Por el contrario, 3 centros obtuvieron un test de Hodge positivo.

Otros comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas (12 centros), principalmente el tratamiento con meropenem o tigeciclina. Por último, algunos participantes (n=8) aconsejaron la adopción de medidas de aislamiento del paciente.

Madrid, 23 de noviembre de 2016

**El Coordinador del Programa de Control de Calidad SEIMC**

**Nota:** si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)