

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-4/16

En el Análisis de Resultados del presente control se comentan los resultados obtenidos en el estudio bacteriológico de la muestra enviada para control externo. Se trató de un líofilo 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 externos expertos 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 líofilos 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 una paciente mujer de 53 años de edad que fue intervenida quirúrgicamente por un traumatismo abdominal grave tras un accidente. A los 2 días de la operación la paciente, que se encontraba bajo sedación y con tratamiento antibiótico empírico, sufrió un brusco empeoramiento de su estado general con fiebre de 39,1°C y alteración de los parámetros respiratorios. Se tomaron muestras de la herida quirúrgica, donde se observó abundante exudado purulento y también dos parejas de hemocultivos que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y micológico, creciendo a las 24 h de incubación la bacteria 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). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF, Bruker) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

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

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entreplanta. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org

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 enterobacterias para la interpretación de los resultados.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		CLSI	EUCAST
Amoxicilina-clavulanato	8/4	S	NI
Piperacilina-tazobactam	16/4	S	NI
Cefotaxima	2	I	I
Ceftazidima	16	R	R
Cefepima	≤1	S	S
Imipenema	≤1	S	S
Meropenema	≤1	S	S
Ciprofloxacino	0,5	S	S
Cotrimoxazol	≤2/38	S	S
Gentamicina	4-8	S-I	I-R
Tobramicina	4-8	S-I	I-R
Amikacina	≤4	S	S
Fosfomicina	>64	NI	R

^aS: sensible, I: intermedio; R: resistente, NI: no interpreta.

En la tabla 1 no se incluye la categorización de las combinaciones de beta-lactámicos con inhibidores según EUCAST, ya que el método empleado para la obtención de las CMIs utiliza una concentración variable de inhibidor.

Además la cepa remitida era portadora de una beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE), por lo que el valor asignado en el apartado de característica especial fue ***K. pneumoniae* productora de BLEE**.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 230 centros inscritos en Bacteriología, de los que 219 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 95,2%, similar al del último control (94,4%).

IDENTIFICACIÓN

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, la gran mayoría de los centros (el 98,5%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control, mientras que hubo un centro (0,5%) que informó únicamente el género. Respecto a los dos resultados discrepantes, uno de ellos (la cepa de *Bacillus licheniformis*) se correspondía claramente con la identificación del control mensual BX-enero-17, por lo que presumiblemente se trataba de una respuesta cruzada con dicho control (error de fase preanalítica).

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	216	98,5
<i>Bacillus licheniformis</i>	1	0,5
<i>Escherichia coli</i>	1	0,5
Género <i>Klebsiella</i>	1	0,5
Total	219	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 75,8% de los centros (166) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 145 (66,1%) las usaron como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por el 29,7% de los participantes, siendo empleada como único método diagnóstico en el 22,3% de las ocasiones. Las pruebas manuales se emplearon por 7 laboratorios (3,2%), mientras que sólo un centro (0,5%) identificó la cepa mediante un estudio de secuenciación. Por último, hubo un participante (0,5%) que no aportó información al respecto. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	145	66,1
Espectrometría de masas	49	22,3
Comercial + espectrometría de masas	16	7,3
Manual + comercial	4	1,8
Comercial + cromatografía	1	0,5
Manual	1	0,5
Manual + aglutinación	1	0,5
Manual + secuenciación	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	219	100,0

Los sistemas comerciales utilizados en la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron los paneles de MicroScan (83 centros), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (51 centros) y del Maldi-Tof de Bruker (41 centros).

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MicroScan (Beckman-Coulter)	83	38,6	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	51	23,7	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	41	19,1	97,6
MALDI-TOF (VITEK® MS)	18	8,4	88,9
Phoenix™ (Becton-Dickinson)	8	3,7	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	8	3,7	100,0
API® 20 E (bioMérieux)	5	2,3	100,0
BBL Crystal™	1	0,5	100,0
Total	215	100,0	98,6

La capacidad de los sistemas comerciales más empleados para identificar la cepa se resume en la tabla 5. En general, con todos se obtuvieron unos excelentes resultados. Las respuestas discrepantes (*B. licheniformis* y *Escherichia coli*) podrían corresponderse con otros controles del Programa, por lo que no se trataría realmente de fallos en la identificación de estos sistemas.

Tabla 5. Resultados de identificación de *K. pneumoniae* con los sistemas mayoritarios.

Sistema	Número usuarios	<i>K. pneumoniae</i>	Género <i>Klebsiella</i>	<i>B. licheniformis</i>	<i>E. coli</i>
MicroScan	83	83 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
VITEK® 2	51	51 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
MALDI-TOF (Bruker)	41	40 (97,6)	0 (0,0)	1 (2,4)	0 (0,0)
MALDI-TOF (Vitek® MS)	18	16 (88,8)	1 (5,6)	0 (0,0)	1 (5,6)

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 217 centros que realizaron una identificación mínima de género *Klebsiella*. Todos ellos informaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 217 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 207 (95,4%), empleándose como método único en el 73,7% de los casos. Hubo 49 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (22,6%), de los que sólo 8 (3,7%) lo hicieron de forma

única. Por último, fueron 20 (9,2%) los centros que emplearon las tiras de gradiente de concentración, en todos los casos combinadas con otros métodos (tabla 6).

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	160	73,7
Microdilución + disco-placa	28	12,9
Microdilución + disco-placa + tiras gradiente concentración	12	5,5
Disco-placa	8	3,7
Microdilución + tiras gradiente concentración	7	3,2
Disco-placa + tiras gradiente concentración	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	217	100,0

Sobre un total de 205 respuestas, los sistemas automatizados más utilizados para la obtención de la CMI por microdilución fueron MicroScan (54,6%) y VITEK® 2 (33,6%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas para la obtención de la CMI.

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	112	54,6
VITEK® 2 (bioMérieux)	69	33,6
Phoenix™ (Becton Dickinson)	12	5,9
Wider® (Soria Melguizo)	10	4,9
Sensititre™ (Thermo Scientific)	1	0,5
Preparación propia	1	0,5
Total	205	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, se debían informar los criterios de puntos de corte seguidos para la interpretación de su antibiograma.

Así, de los 217 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Klebsiella*, 101 (46,5%) emplearon los criterios del CLSI, 96 (44,2%) los del EUCAST, 17 laboratorios (7,8%)

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

utilizaron ambos criterios, y dos (1,0%) se basaron en la bibliografía. Por último, hubo un centro (0,5%) que envió la cepa a un laboratorio externo, el cual no aportó información al respecto. Estos datos se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Criterio	Número	%
CLSI	101	46,5
EUCAST	96	44,2
CLSI + EUCAST	17	7,8
Bibliografía	2	1,0
No informan	1	0,5
Total	217	100,0

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 30. En total, se recibieron resultados correspondientes a 38 antibióticos diferentes, pero tan sólo 18 fueron informados por más de 30 participantes.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos (>= 30 participantes).

Antibiótico	Número	Categorización ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Ampicilina	140	0	0	140 (100,0)	0
Amoxicilina-clavulanato	184	140 (76,1)	14 (7,6)	26 (14,1)	4 (2,2)
Piperacilina-tazobactam	139	103 (74,1)	26 (18,7)	10 (7,2)	0
Aztreonam	39	0	0	39 (100,0)	0
Cefuroxima	107	2 (1,9)	0	105 (98,1)	0
Cefoxitina	81	6 (7,4)	16 (19,8)	58 (71,6)	1 (1,2)
Cefotaxima	176	4 (2,3)	10 (5,7)	162 (92,0)	0
Ceftazidima	136	0	0	135 (99,3)	1 (0,7)
Cefepima	118	34 (28,8)	8 (6,8)	75 (63,6)	1 (0,8)
Ertapenem	132	131 (99,2)	0	1 (0,8)	0
Imipenem	194	193 (99,5)	0	1 (0,5)	0
Meropenem	45	45 (100,0)	0	0	0
Gentamicina	197	5 (2,5)	63 (32,0)	129 (65,5)	0
Tobramicina	85	5 (5,9)	31 (36,5)	49 (57,6)	0
Amikacina	173	172 (99,4)	0	1 (0,6)	0
Ciprofloxacino	204	193 (94,6)	9 (4,4)	1 (0,5)	1 (0,5)
Cotrimoxazol	149	133 (89,3)	0	16 (10,7)	0

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

Tigeciclina	47	3 (6,4)	1 (2,1)	43 (91,5)	0
-------------	----	---------	---------	-----------	---

^aLos 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 y sin efectos de comparación. En el antibiograma se consideran resultados **NO Aceptables** los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente). Los errores menores y mayores, siempre que no supongan un cambio importante en el tratamiento del microorganismo estudiado, se consideran aceptables.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado para la mayoría de los antibióticos. Las principales discrepancias se obtuvieron con la amoxicilina-clavulanato, piperacilina-tazobactam, cefepima, gentamicina y tobramicina. Respecto a la amoxicilina-clavulanato y piperacilina-tazobactam, la cepa presentaba una CMI de 8/4 µg/ml y 16/4 µg/ml respectivamente, ambas en el límite superior de sensibilidad del CLSI, por lo que una dilución mayor se categorizaría como intermedio.

Respecto al cefepime, a pesar de que el valor asignado fue Sensible (CMI ≤1 µg/ml), algunos centros prefirieron informar este antimicrobiano como intermedio o resistente haciendo lectura interpretada, debido a que dicha cepa era productora de una BLEE. No obstante, hubo 17 centros que informaron una CMI ≥16 µg/ml, la mayoría empleando MicroScan.

Y por último, en cuanto a la gentamicina y tobramicina, la CMI obtenida para categorizar el valor asignado variaba de 4 a 8 µg/ml. Por lo que una CMI de 4 µg/ml sería sensible según CLSI pero intermedio por EUCAST, mientras que una de 8 µg/ml sería intermedia por CLSI y resistente por EUCAST.

CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Como ya se ha comentado, la cepa de *K. pneumoniae* era portadora de una BLEE. Los comentarios acerca del mecanismo de resistencia a los β-lactámicos se han resumida en la tabla 10. En esta ocasión, la gran mayoría de los participantes (195, el 89,9%) informaron correctamente la producción de BLEE, bien de forma aislada o junto con otro mecanismo de resistencia.

Tabla 10. Detección de la característica fenotípica especial.

Mecanismo	Número	%
BLEE	162	74,7
BLEE + alteración permeabilidad	24	11,0
BLEE + AmpC	7	3,2
AmpC	3	1,4
BLEE + AmpC + alteración permeabilidad	2	0,9
Beta-lactamasa	1	0,5

No informan	18	8,3
Total	217	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 219 participantes que enviaron hoja de respuesta se obtuvieron los siguientes datos: 211 laboratorios (96,4%) afirmaron no haberlo utilizado, 6 (2,7%) declararon haberlo requerido y otros 2 (0,9%) lo utilizaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, los principales comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas. Así, 18 participantes recomendaban el tratamiento con algún carbapenem, 13 desaconsejaban el tratamiento con quinolonas al presentar resistencia al ácido nalidíxico y 5 desaconsejaban la administración de cefepima, amoxicilina-clavulánico o piperacilina-tazobactam. Por último, nueve comentaron explícitamente que la cepa era resistente a la tigeciclina y diez aconsejaron el aislamiento del paciente.

Nota.- Todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar, así como de lectura interpretada de antibiograma, no son objeto de evaluación por parte del Programa CCS.

Madrid, 21 de junio de 2017

Concepción Gimeno Cardona

Coordinadora 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.

Nota: Las actividades subcontratadas por el Programa CCS son: el transporte de las muestras, el valor asignado, y los estudios de homogeneidad y estabilidad. Si en un determinado momento, se requiere la subcontratación de otras actividades diferentes a las indicadas anteriormente, serán debidamente informadas.

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