

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-1/18

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 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 externos expertos que actuaron de referencia para el Programa CCS. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de las muestras a través de ensayos realizados tras la preparación de los liófilos y tras su envío, asegurando así la validez de las mismas.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, que 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 la de un paciente varón de 61 años, que en el contexto de un cuadro gripal de varios días de evolución con fiebre, escalofríos, malestar general y rinorrea desarrolló una neumonía grave que obligó a ingresarlo en la Unidad de Cuidados Intensivos. El paciente, que había sido diagnosticado de una EPOC, presentaba disnea normalmente a moderados esfuerzos, y tenía como otros antecedentes patológicos de interés, hipertensión arterial y diabetes mellitus. Tras la estabilización del paciente mediante sedación, intubación y ventilación mecánica e inicio del tratamiento antibiótico empírico siguiendo los protocolos establecidos para tales casos, hubo una ligera mejoría del paciente. Sin embargo, al séptimo día de su ingreso en UCI, se produjo un empeoramiento del estado general con caída de parámetros respiratorios y elevación de la fiebre a 39,5°C. Se tomaron muestras de broncoaspirado y hemocultivos que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para su estudio bacteriológico y micológico, aislándose a las 14 h, en el frasco aerobio de las dos parejas de hemocultivos remitidas, la bacteria que fue 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 *Pseudomonas aeruginosa* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante pruebas bioquímicas (tarjeta VITEK® 2, bioMérieux), y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante estudio en disco-placa y por microdilución en caldo (panel ENN2F de Sensititre™, Thermo Scientific™) 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 *P. aeruginosa* para la interpretación de los resultados.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		CLSI	EUCAST
Piperacilina / tazobactam	>64/4	R	R
Ceftazidima	32	R	R
Cefepima	16	I	R
Imipenem	>8	R	R
Meropenem	>8	R	R
Gentamicina	2	S	S
Tobramicina	≤2	S	S
Amikacina	8	S	S
Ciprofloxacino	>2	R	R
Colistina	2	S	S

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

En base a los resultados de los dos laboratorios utilizados como expertos para determinar el valor asignado, se trataba de una cepa de *P. aeruginosa* multirresistente. El patrón de resistencia observado puede deberse a la hiperproducción de la β-lactamasa cromosómica AmpC natural de la especie junto con alteraciones en la permeabilidad y/o bombas de expulsión.

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

- β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) tipos: SHV, CTX-M, TEM, OXA-1 y OXA-2.
- AmpC plasmídica de las familias: ACC, FOX, CIT, DHA, EBC y MOX.
- Carbapenemasas clase A: GES, IMI, KPC, NMC, Sme
- Carbapenemasas clase B: GIM, IMP, KHM, NDM, SPM, VIM.
- Carbapenemasas clase D: OXA-48.

- Oxacilinasas tipo: OXA-10, OXA-12, OXA-20, OXA-23, OXA-24, OXA-46, OXA-51 y OXA-58.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 228 centros inscritos en Bacteriología, de los que 219 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 96,1%, superior al del último control (87,5%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*P. aeruginosa*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros participantes (215, el 98,4%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control.

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

Identificación	Número	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	215	98,2
<i>Escherichia coli</i>	1	0,5
Género <i>Pseudomonas</i>	1	0,5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0,5
Total	219	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 66,2% de los centros (145) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 125 (57,1%) las usaron como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por el 37,0% de los participantes (81 centros), siendo empleada como único método diagnóstico en el 30,6% de las ocasiones. Las pruebas manuales sólo fueron usadas por 11 laboratorios (5,0%), mientras que únicamente un laboratorio (0,4%) identificó la cepa mediante un estudio de secuenciación. Por último, un centro (0,4%) envió la cepa a un laboratorio externo, no aportando información al respecto. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

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

Método	Número	%
Comercial	125	57,1
Espectrometría de masas	67	30,6

Comercial + espectrometría de masas	14	6,4
Manual + comercial	5	2,3
Manual	4	1,8
Comercial + inmunocromatografía	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 para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron los paneles MicroScan de Beckman Coulter (67 centros), seguidos del MALDI-TOF de Bruker (55 centros), y de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (48 centros), obteniendo todos ellos un excelente índice de aciertos.

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MicroScan (Beckman Coulter)	67	31,6	98,5
MALDI-TOF (Bruker)	55	26,0	98,2
VITEK® 2 (bioMérieux)	48	22,6	97,9
MALDI-TOF (VITEK® MS)	25	11,7	100,0
Phoenix™ (Becton Dickinson)	8	3,8	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	6	2,8	100,0
API® 20 NE (bioMérieux)	1	0,5	100,0
BBL™ Crystal™ (Becton Dickinson)	1	0,5	100,0
No especifica	1	0,5	100,0
Total	212	100,0	98,6

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos ellos obtuvieron un porcentaje de aciertos elevado para la identificación de *P. aeruginosa*, con algunos errores ocasionales.

**Tabla 5. Resultados de identificación de *P. aeruginosa* con los sistemas comerciales más empleados<sup>a</sup>.**

Sistema	Número	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	Género <i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
MicroScan	67	66 (98,5)	0	0	1 (1,5)
MALDI-TOF (Bruker)	55	54 (98,2)	1 (1,8)	0	0
VITEK® 2 (bioMérieux)	48	47 (97,9)	0	1 (2,1)	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	25	25 (100,0)	0	0	0

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

## 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 *Pseudomonas*. Todos ellos realizaron el estudio de sensibilidad, con 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 206 (95,0%), empleándose como método único en el 65,0% de los casos. Respecto a las tiras de gradiente de concentración, fueron utilizadas por 53 de los centros (24,4%), en la gran mayoría de casos combinadas con otro método. Por último, la técnica de difusión en disco-placa fue empleada por 40 laboratorios (18,4%), de los que 6 (2,7%) lo hicieron de forma única. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

**Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución	141	65,0
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	35	16,1
Microdilución + disco-placa	17	7,8
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	13	6,0
Disco-placa	6	2,7
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	4	1,9
Tiras de gradiente concentración	1	0,5
Total	217	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante los métodos de microdilución y tiras de gradiente de concentración fueron las placas de MicroScan (52,6%), seguidas de las tarjetas VITEK® 2 (35,4%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

**Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma**

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	110	52,6
VITEK® 2 (bioMérieux)	74	35,4
Phoenix™ (Becton Dickinson)	10	4,8
Wider® (Soria Melguizo)	7	3,4
MIC Test Strip (Liofilchem®)	4	1,9
Sensititre™ (Thermo Scientific)	3	1,4
No específica	1	0,5
Total	209	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 de inhibición o CMI) y, en el caso de que quisieran realizar una lectura interpretada de los resultados obtenidos para algunos antibióticos que no se correspondiera con el patrón de resistencia intrínseca del microorganismo estudiado, que ésta la consignaran en el apartado de comentarios y no en la tabla de respuesta.

Adicionalmente, cada participante debía informar los criterios de puntos de corte que había seguido para la interpretación de su antibiograma. Así, de los 217 laboratorios que realizaron el antibiograma con la identificación mínima de género *Pseudomonas*, 142 (65,4%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 74 (34,1%) los del CLSI, mientras que el centro restante (0,5%) se basó en la bibliografía (tabla 8).

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

Marca	Número	%
EUCAST	142	65,4
CLSI	74	34,1
Bibliografía	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 han recibido resultados correspondientes a 32 antibióticos diferentes.

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 el estudio de sensibilidad, el Programa CCS considera como resultados **NO aceptables**, los **errores máximos** de categorización (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente).

**Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Nº	Categorización <sup>a</sup>			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Piperacilina	45	0	0	45 (100,0)	0
Piperacilina-tazobactam	205	1 (0,5)	4 (2,0)	199 (97,0)	1 (0,5)
Ceftazidima	213	3 (1,4)	20 (9,4)	190 (89,2)	0
Cefepima	181	4 (2,2)	39 (21,5)	138 (76,3)	0
Ceftazidima-avibactam	30	28 (93,3)	0	2 (6,7)	0
Ceftolozano-tazobactam	65	63 (96,9)	0	2 (3,1)	0
Aztreonam	130	2 (1,5)	102 (78,5)	26 (20,0)	0
Imipenem	204	1 (0,5)	1 (0,5)	202 (99,0)	0
Meropenem	192	0	0	192 (100,0)	0
Doripenem	30	0	0	30 (100,0)	0
Gentamicina	182	113 (62,1)	23 (12,6)	46 (25,3)	0
Tobramicina	199	196 (98,5)	1 (0,5)	2 (1,0)	0
Amikacina	166	109 (65,7)	53 (31,9)	4 (2,4)	0
Ciprofloxacino	208	1 (0,5)	0	207 (99,5)	0
Levofloxacino	98	0	0	98 (100,0)	0
Fosfomicina	39	3 (7,8)	1 (2,5)	34 (87,2)	1 (2,5)
Colistina	186	177 (95,2)	3 (1,6)	6 (3,2)	0

<sup>a</sup>Los 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 gentamicina y la amikacina, en la que se observó

discrepancia entre los diferentes centros. Ello se debía a los puntos de corte utilizados para la interpretación de las CMI. Respecto a la gentamicina, en base a los dos laboratorios utilizados para el valor asignado, la cepa presentaba una CMI entre 2 y 8 µg/mL a la misma. Una CMI de 2 µg/mL a la gentamicina sería sensible para ambos comités, sin embargo, con la CMI de 8 µg/mL la cepa presentaría una sensibilidad intermedia para CLSI, pero resistente por EUCAST. De modo similar, la cepa presentaba una CMI entre 8 y 16 µg/mL a la amikacina. Una CMI a la amikacina de 8 µg/mL sería sensible para ambos comités, pero la CMI de 16 µg/mL sería sensible para CLSI pero intermedia para EUCAST.

### CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

De acuerdo con el laboratorio de referencia, el patrón de resistencia observado en la cepa de *P. aeruginosa* se debía a la hiperproducción de la β-lactamasa cromosómica AmpC, natural de esta especie, junto con alteraciones en la permeabilidad o bombas de expulsión. De los 217 laboratorios con la identificación mínima de género *Pseudomonas*, 119 realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa. El conjunto de los comentarios efectuados se ha resumido en la tabla 10. Los comentarios más frecuentes fueron que la cepa era multirresistente (55 laboratorios), resistente a las carbapenemas (24) o extremadamente resistente (16).

**Tabla 10. Detección de la característica fenotípica especial.**

Marca	Número	%
Multirresistente	55	25,4
Resistente a las carbapenemas	24	11,1
Extremadamente resistente	16	7,4
Productor de carbapenemasa	7	3,3
Impermeabilidad	5	2,3
Hiperproducción AmpC + impermeabilidad	4	1,8
Hiperproducción (desrepresión) de AmpC	3	1,4
Posible productor de carbapenemasa	2	0,9
Cepa productora de BLEE	1	0,4
Hiperproducción AmpC + impermeabilidad + pérdida de porinas	1	0,4
Hiperproducción AmpC + pérdida de porinas	1	0,4
Sin información específica	98	45,2
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 con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 216 laboratorios (98,6%) afirmaron no haberlo utilizado, 1 centro (0,5%) declaró haberlo requerido y otros 2 centros (0,9%) lo utilizaron parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, bastantes centros (52) comentaron explícitamente que la cepa no era productora de carbapenemasa, bien por métodos fenotípicos o moleculares.

Otros comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con ceftolozano-tazobactam (9 centros) o ceftazidima-avibactam (3 centros). Algunos participantes recomendaban alguno de estos compuestos asociado a tobramicina, amikacina o colistina endovenosa o inhalada. Por último, algunos centros (n=5) recomendaron el aislamiento del paciente.

Madrid, 15 de septiembre de 2018



C/ Agustín de Betancourt, 13  
Entreplanta - 28003 Madrid  
NIF: G-78387057

Concepción Gimeno Cardona

**Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC**

**Nota:** todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar no son objeto de evaluación por parte del Programa CCS, por lo que este aspecto está fuera del alcance de la acreditación por ENAC.

**Nota:** las actividades subcontratadas por el Programa CCS son el transporte de las muestras, el valor asignado (consenso de expertos), y los estudios de homogeneidad y estabilidad de las muestras provenientes de cada uno de los lotes, siguiendo una estricta programación de tareas. Si en un determinado momento se necesita subcontratar otras actividades diferentes a las indicadas se informará debidamente.

Cumpliendo con los requerimientos de la norma ISO 17043, las actividades subcontratadas que afectan al valor asignado y a los estudios de homogeneidad son realizadas por colaboradores externos, acreditados por la norma ISO 15189 o evaluados previamente por el Programa CCS según los criterios de la norma ISO 15189.

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