

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-2/21

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 de 37 años que era intervenido quirúrgicamente por un traumatismo craneoencefálico grave tras un accidente de tráfico, habiendo ingresado posteriormente en la Unidad de Cuidados Intensivos. El paciente requirió intubación y ventilación mecánica. Con tratamiento antibiótico empírico se observó cierta mejoría clínica, pero tras cinco días se produjo un brusco empeoramiento de su estado general con elevación de la temperatura corporal y alteración de los parámetros respiratorios. Se tomaron muestras de broncoaspirado 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 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 *Klebsiella pneumoniae* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

B-2/21

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución en caldo, complementado con tiras de gradiente de concentración, 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. Para la interpretación de los resultados, se emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes al orden Enterobacterales para la interpretación de los resultados.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		EUCAST (V 11.0-2021)	CLSI (M100S31-2021)
Ampicilina	>8	R	R
Amoxicilina-clavulanato	>32	R	R
Cefotaxima	>32	R	R
Cefepima	>8	R	R
Ertapenem	>32	R	R
Imipenem	>32	R	R
Meropenem	>32	R	R
Ciprofloxacino	>1	R	R
Gentamicina	>4	R	R
Tobramicina	>4	R	R
Amikacina	>16	R	R
Cotrimoxazol	≤2/38	S	S
Fosfomicina	≤16	S	NI ^b

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

^bDe acuerdo con CLSI, los puntos de corte para la fosfomicina sólo son aplicables a las infecciones del tracto urinario causadas por *E. coli* y no deberían ser extrapolados a otras especies de enterobacterias.

En base a los dos laboratorios utilizados para obtención del valor asignado, la cepa de *K. pneumoniae* remitida presentaba como características especial ser productora de una β-lactamasa de espectro extendido (BLEE) de la familia CTX-M-1 y de una carbapenemasa del tipo OXA-48.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 234 centros inscritos en Bacteriología, de los que 217 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 92,7%, ligeramente superior al del último control (88,5%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*K. pneumoniae*). Como se puede observar en la tabla 2, la práctica totalidad de los centros participantes (215, el 99,0%) identificaron correctamente la especie de la cepa control.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	215	99,0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,5
<i>Klebsiella ozaenae</i> ^a	1	0,5
Total	217	100,0

^aActualmente denominada *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae*.

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 53,5% de los centros (n=116) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de ellos en 93 ocasiones (42,8%) como único método. Las técnicas comerciales fueron también utilizadas por 116 centros (53,5%), y como único método diagnóstico por el 39,1% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, fueron informadas por 8 laboratorios (3,7%), 2 de ellos (0,9%) de forma única. Por último, hubo 2 centros (0,9%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para identificar de la cepa, uno de ellos mediante secuenciación de última generación. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	93	42,8
Comercial	85	39,1
Comercial + espectrometría de masas	18	8,3
Comercial + inmunocromatografía	6	2,8
Manual + comercial	5	2,3

Espectrometría de masas + inmunocromatografía	3	1,4
Manual	2	0,9
Comercial + espectrometría de masas + aglutinación	1	0,5
Comercial + inmunocromatografía + PCR	1	0,5
Manual + espectrometría de masas	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
Secuenciación de última generación (NGS)	1	0,5
Total	217	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (72 centros), seguido de los paneles MicroScan de Beckman Coulter (52 centros), de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (44 centros) y del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (40 centros), obteniendo todos ellos un excelente índice de acierto. El resultado discrepante informado (*K. oxytoca*) se produjo con el MALDI-TOF de Bruker.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	72	33,8	98,6
MicroScan (Beckman Coulter)	52	24,4	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	44	20,7	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	40	18,8	100,0 ^a
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	3	1,4	100,0
API® 20 E (bioMérieux)	2	0,9	100,0
Total	213	100,0	99,5

^aSe ha incluido válida la respuesta *Klebsiella ozaenae*.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a todos los 217 centros que realizaron la identificación mínima de género *Klebsiella*. De ellos, hubo un centro que no realizó el estudio de sensibilidad, mientras que otros dos no introdujeron ningún antibiótico en la nueva aplicación, por lo que se analizaron un total de 214 antibiogramas. Se recuerda a centros participantes que si presentan algún problema durante la introducción de los resultados en la nueva aplicación, contacten con el Programa para poder dar una solución dentro del plazo de respuesta.

B-2/21

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 210 (98,1%), empleándose como método único en el 72,9% de los casos. Respecto a las tiras de gradiente de concentración, fueron utilizadas por 45 de los centros (21,0%), en todos los casos combinadas con otro método. Por último, la técnica de difusión en disco-placa fue empleada por 36 laboratorios (16,8%), de los cuales 3 (1,4%) la hicieron como único método. Todos estos datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	156	72,9
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	22	10,3
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	22	10,3
Microdilución + disco-placa	10	4,7
Disco-placa	3	1,4
Disco-placa+ tiras de gradiente de concentración	1	0,4
Total	214	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante los métodos de microdilución y tiras de gradiente de concentración fueron los paneles de MicroScan (51,9%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (40,4%). El conjunto de las marcas que se emplearon se detalla en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	109	51,9
VITEK® 2 (bioMérieux)	85	40,4
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	12	5,7
Etest® (bioMérieux)	1	0,5
Sensititre™ (Thermo Fisher)	1	0,5
Wider® (Soria Melguizo)	1	0,5
No específica ^a	1	0,5
Total	210	100,0

^aMétodos: tiras de gradiente de concentración (1).

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.

Así, de los 214 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Klebsiella*, 193 (90,2%) utilizaron los criterios del EUCAST, 17 (8,0%) los del CLSI, 3 (1,4%) se basaron en ambos comités, mientras que el centro restante (0,4%) empleó la bibliografía (tabla 7).

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

Marca	Número	%
EUCAST	193	90,2
CLSI	17	8,0
CLSI + EUCAST	3	1,4
Bibliografía	1	0,4
Total	214	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 42 antibióticos diferentes, pero tan solo 23 fueron informados por 30 o más participantes.

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 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible	Intermedio / Sensible exposición incrementada	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Ampicilina	146	0	0	146 (100,0)	0	0
Amoxicilina-clavulanato	188	0	0	188 (100,0)	0	0
Piperacilina-tazobactam	175	0	0	175 (100,0)	0	0
Cefuroxima	115	1 (0,9)	0	114 (99,1)	0	0
Cefoxitina	59	0	0	55 (93,2)	4 (6,8)	0

Cefotaxima	183	0	0	183 (100,0)	0	0
Ceftazidima	149	0	0	148 (99,3)	1 (0,7)	0
Ceftazidima-avibactam	120	118 (98,3)	0	2 (1,7)	0	0
Ceftolozano-tazobactam	78	1 (1,3)	0	77 (98,7)	0	0
Cefepima	169	0	0	169 (100,0)	0	0
Ertapenem	164	0	0	164 (100,0)	0	0
Imipenem	191	5 (2,6)	38 (19,9)	148 (77,5)	0	0
Meropenem	145	0	34 (23,4)	111 (76,6)	0	0
Aztreonam	87	1 (1,1)	0	86 (98,9)	0	0
Gentamicina	194	0	0	194 (100,0)	0	0
Tobramicina	105	0	0	105 (100,0)	0	0
Amikacina	189	1 (0,5)	0	188 (99,5)	0	0
Ciprofloxacino	196	0	0	196 (100,0)	0	0
Levofloxacino	71	0	0	71 (100,0)	0	0
Cotrimoxazol	184	184 (100,0)	0	0	0	0
Tigeciclina	113	78 (69,0)	18 (15,9)	15 (13,3)	2 (1,8)	0
Fosfomicina	93	64 (68,8)	0	28 (30,1)	1 (1,1)	0
Colistina	110	105 (95,5)	0	4 (3,6)	1 (0,9)	0

^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 la mayoría de los antibióticos, con la excepción del imipenem, meropenem, tigeciclina y fosfomicina.

CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Como ya se ha mencionado, la cepa de *K. pneumoniae* era productora de una BLEE de la familia CTX-M-1 y de una carbapenemasa de tipo OXA-48. De los 217 participantes con la identificación mínima de género *Klebsiella*, 194 (89,4%) realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa (tabla 9).

Los comentarios más frecuentes fueron que la cepa era productora de OXA-48 (80 centros, el 36,9%) seguido de que era productora de BLEE más OXA-48 (71 centros, el 32,7%). Se consideraron respuestas óptimas aquellas en las que se identificó de manera adecuada (coincidencia con valor asignado) los mecanismos de resistencia que presentaba la cepa.

Tabla 9. Detección de la característica fenotípica especial.

Marca	Número	%
OXA-48	80	36,9
BLEE + OXA-48	71	32,7
Carbapenemasa	14	6,5
BLEE + carbapenemasa	7	3,2
OXA	6	2,7
BLEE + OXA	5	2,3
Multirresistente	5	2,3
Impermeabilidad β -lactámicos + carbapenemasa	3	1,4
β -lactamasa	1	0,5
BLEE	1	0,5
BLEE + OXA-48 + AmpC	1	0,5
No informa	23	10,5
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 217 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 210 laboratorios (96,8%) no lo utilizaron, 2 (0,9%) declararon haberlo requerido, y los 5 restantes (2,3%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, los principales comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas (n=6), principalmente el tratamiento con ceftazidima-avibactam. Por último, algunos centros (n=4) recomendaron la adopción de medidas de aislamiento del paciente.

Madrid, 28 de octubre de 2021



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

B-2/21



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 la tipificación de las cepas, necesaria para que desde el Programa se establezca el valor asignado a partir del consenso de resultados de dos laboratorios 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/IEC 17043, las actividades subcontratadas que afectan a los resultados de las pruebas solicitadas y a los estudios de homogeneidad y estabilidad 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.