

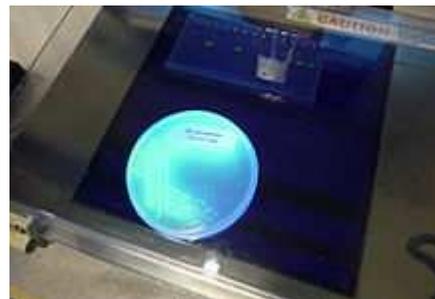
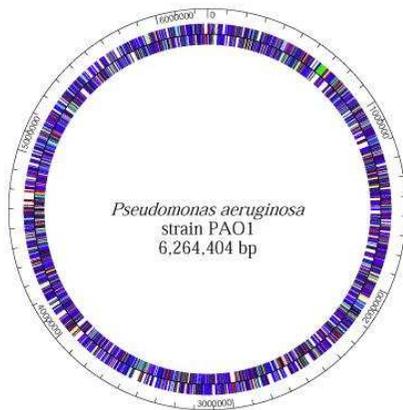
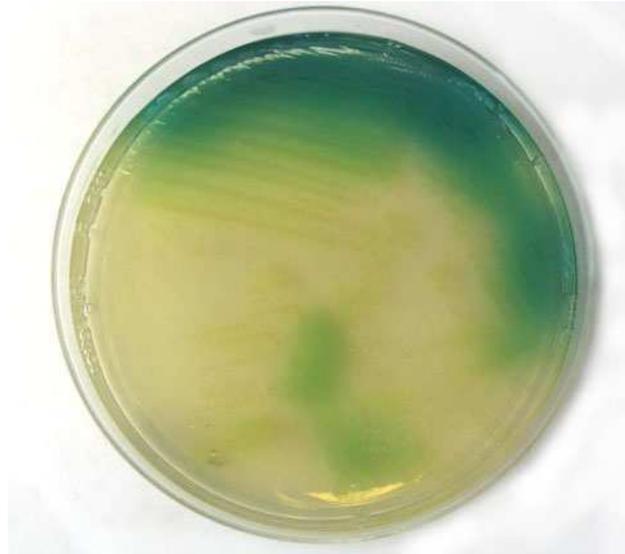


# Capacidad de los laboratorios españoles para la realización de las pruebas de sensibilidad, detección e interpretación de fenotipos de resistencia a $\beta$ -lactámicos en *Pseudomonas aeruginosa*

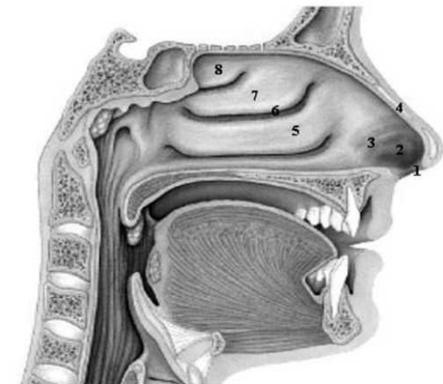


Carlos Juan Nicolau  
Hospital Universitari Son Espases  
XVI Congreso SEIMC, Bilbo, 9-Mayo-2012  
GEMARA

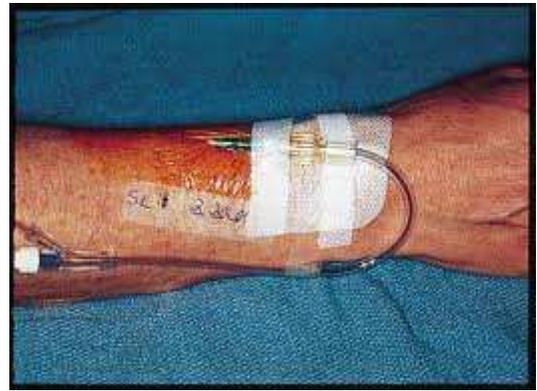
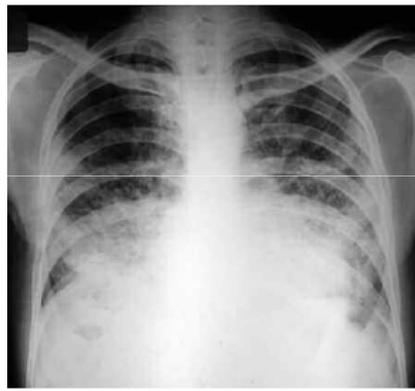
# INTRO



# INTRO



# Importancia clínica

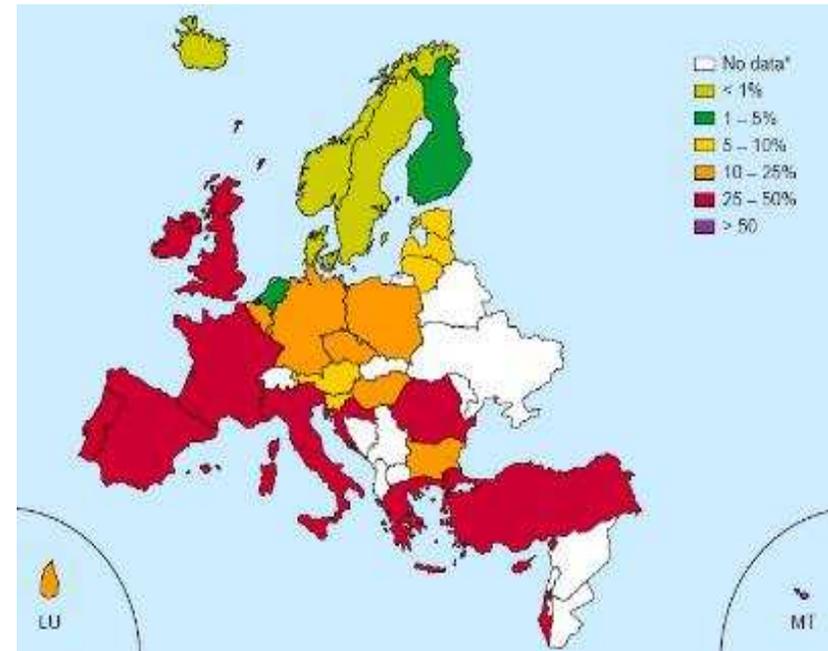


# El problema de la resistencia a los antibióticos en *P. aeruginosa*

- MDR: R a  $\geq 3$  familias: penicilinas, cefalosporinas, monobactamas, carbapenemas, aminoglicósidos, fluoroquinolonas.
- Panresistencia: + Polimixinas
- 1ª causa: elevada resistencia intrínseca de P.a.

AmpC

Bombas

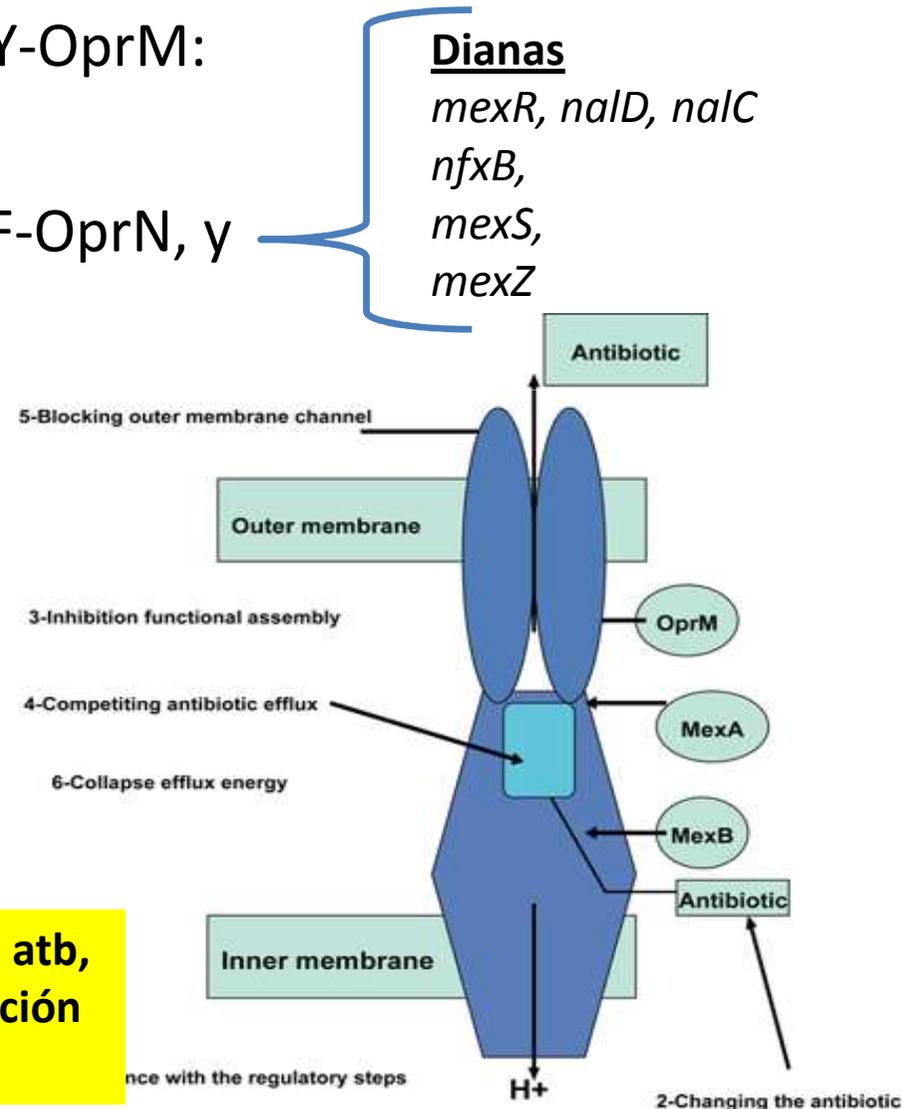


Aumentable a través de:  
mutaciones en cromosoma  
y/o adquisición horizontal  
de determinantes de R

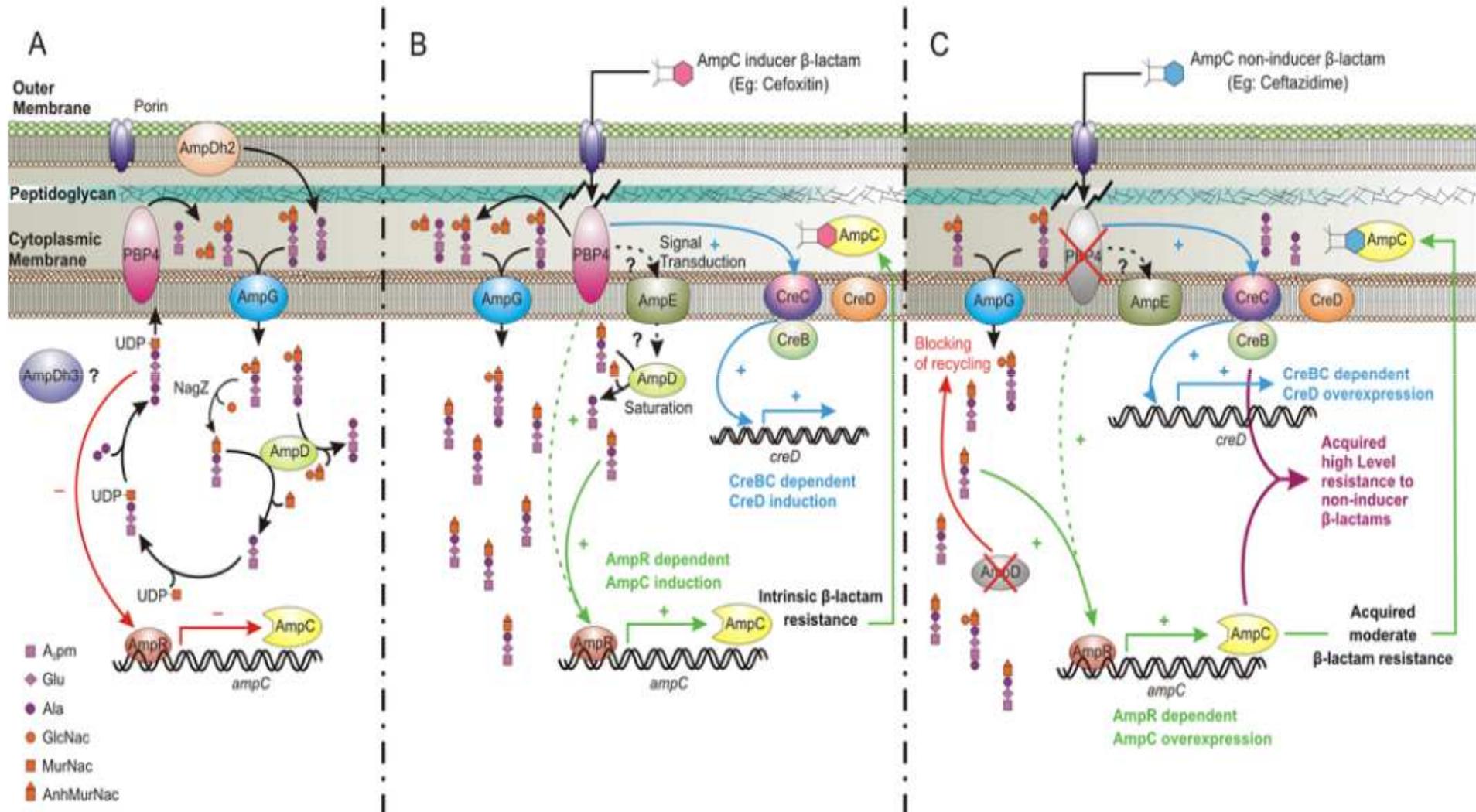
# Resistencia por mutaciones en genes cromosómicos

- 12 bombas tipo RND:
- MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexXY-OprM:  $\beta$ -lactámicos
- MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, y MexXY-OprM: FQs
- MexXY-OprM: aminoglicósidos
- Pérdida OprD: carbapenemas
- QRDR: FQs
- Substitución lípido A del LPS por aminoarabinosa: colistina
- Etc...

Mecanismos clasificables en: i) Inactivación del atb, ii) reducción de su concentración, iii) modificación de su diana.



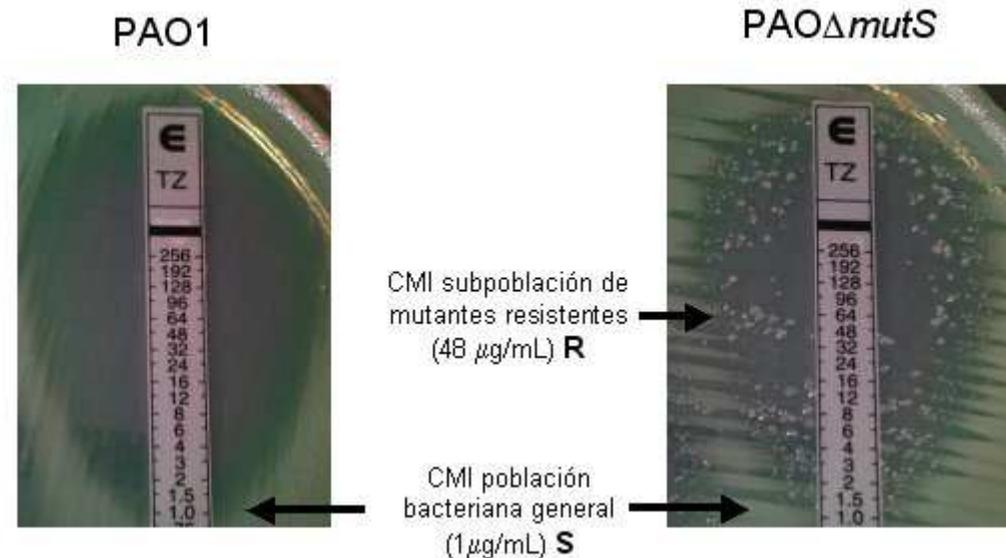
# Resistencia por mutaciones en genes cromosómicos



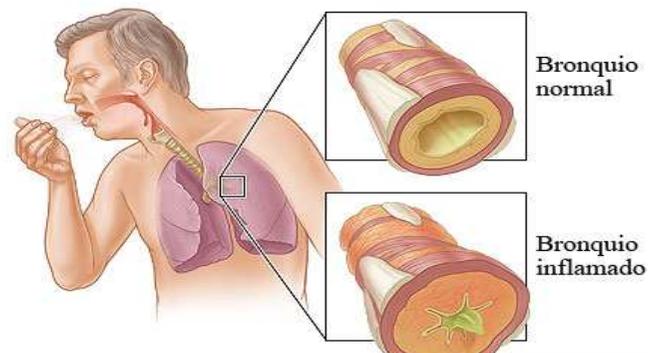
Bases moleculares de la hiperproducción de AmpC

# Resistencia por mutaciones en genes cromosómicos

- Cepas hipermutadoras
- MRR: *mutS*, *mutL*
- GO: *mutT*, *mutY*

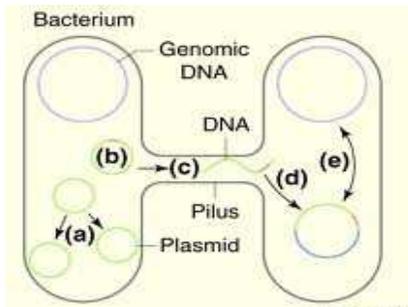
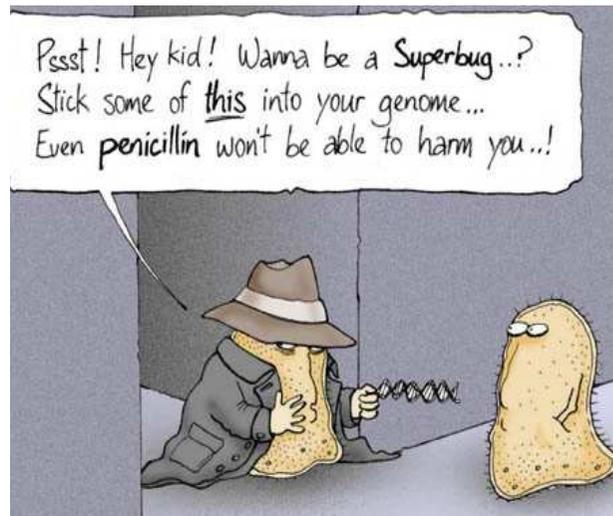


Mutaciones no sólo afectando a la resistencia, sino también a la virulencia, persistencia, crecimiento, formación biofilms, pigmentos, etc...

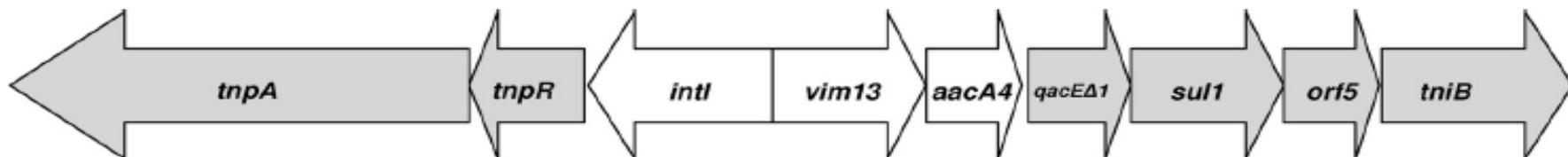
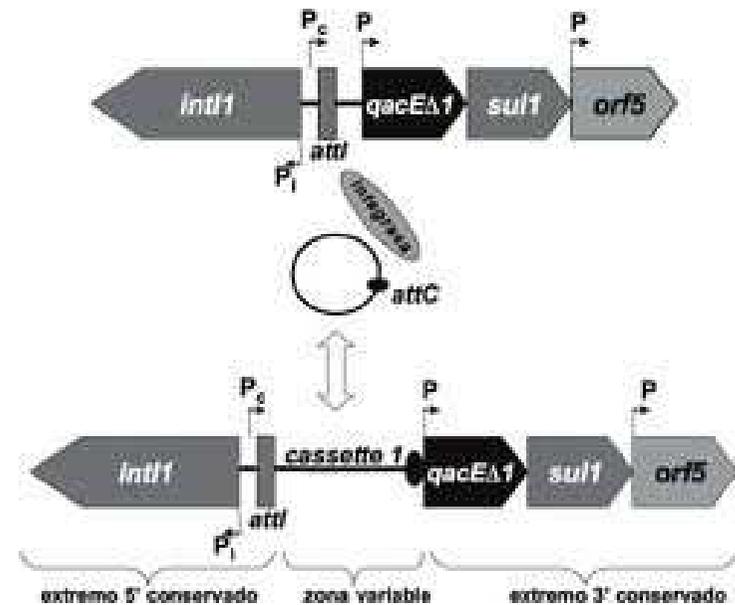
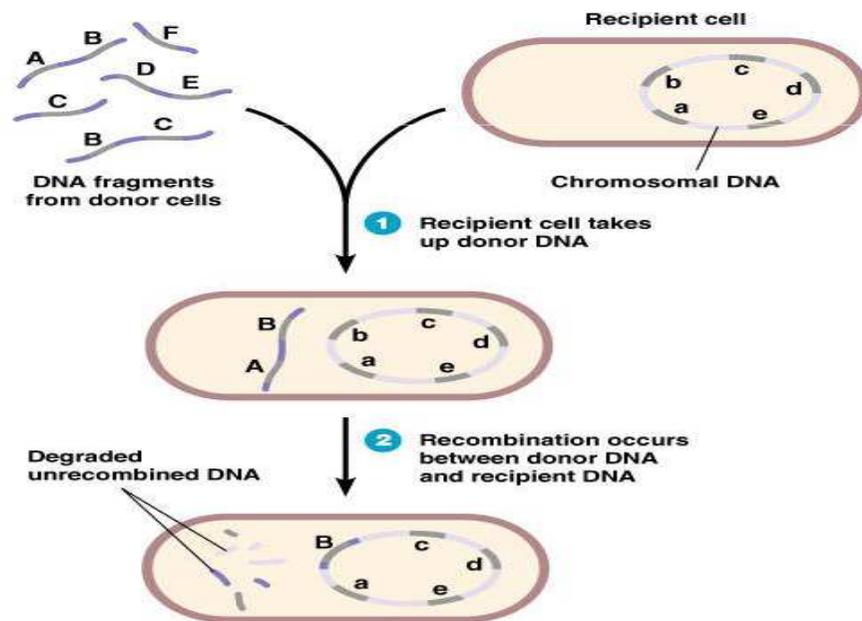


**Infecciones respiratorias crónicas: FQ, EPOC, etc.**

# Adquisición horizontal de determinantes de resistencia



Beta-lactamases  
Aminoglycoside-modifying enzymes

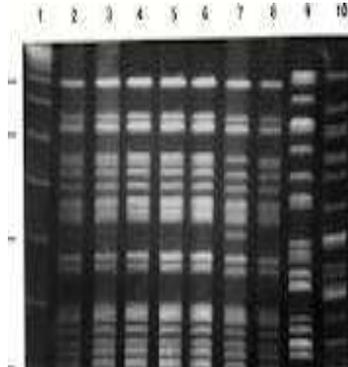


# Beta-lactamasas adquiridas

- BLEE “clásicas”, derivadas de TEM / SHV (clase A)
- Otras BLEE clase A: CTX-M, PER, VEB, GES, BEL.
- BLEE de clase A con actividad carbapenemasa, poco comunes: GES y KPC.
- BLEE clase D: las derivadas de OXA-2 y -10
- MBLs (clase B): mayoritariamente VIM e IMP, aunque últimamente surgen nuevas variantes: SPM-1, GIM-1, NDM-1, AIM-1, SIM-1.

**En conjunto, hidrolizan a TODOS los antibióticos  $\beta$ -lactámicos**

# Resistencia en P.a = $\Sigma$



- “High-risk clones”
- MLSTs globales
- Asociados a FQ: ST179, Liverpool, Manchester.
- Asociados a  $\beta$ -lactamasas: ST235
- Asociados a MBL y/o mecanismos mutacionales: ST175

Elevada resistencia intrínseca + adquisición = “Enmascaramiento” de determinados de ellos.  
► Necesidad de una correcta estimación de susceptibilidad e inferencia de mecanismos; de aunar protocolos y establecer técnicas de referencia con resultados inequívocos: ► **Tratamientos personalizados, más eficaces, medidas de aislamiento: contención de la resistencia.**

# Objetivos

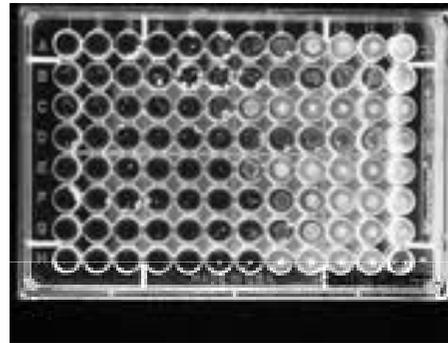
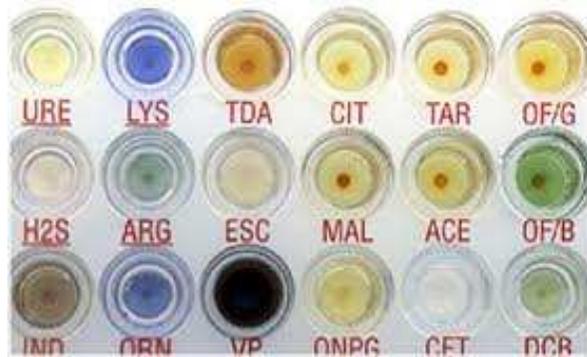
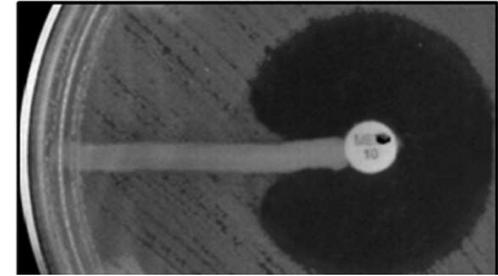
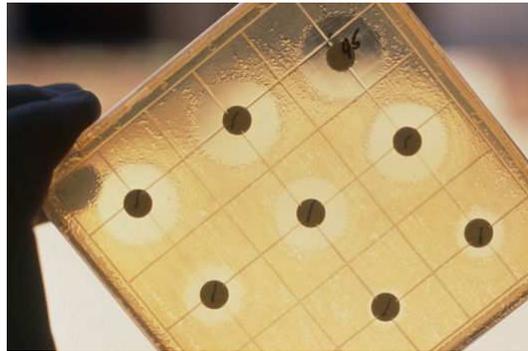
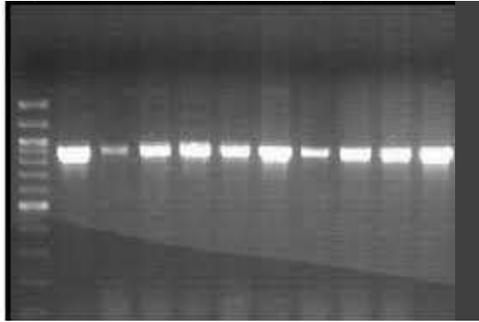
- Evaluar la capacidad de los laboratorios de Microbiología Clínica españoles para llevar a cabo adecuadamente la determinación de la sensibilidad a **Beta-lactámicos**, y detectar e interpretar los mecanismos de resistencia subyacentes, mutacionales y/o adquiridos (BLEEs, carbapenemasas), y la aplicación de medidas de control de infección, en una colección de cepas previamente caracterizadas de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Ofrecer una visión general y descriptiva de la diversidad de métodos utilizados para determinar la sensibilidad y su influencia en las discrepancias de los resultados, así como analizar los errores cometidos por los centros (mE, ME, VME), en relación a los emitidos por los centros coordinadores en la categorización de las cepas.

# Metodología



- Multicéntrico: 88 hospitales (54 aceptan participar)
- Enviado panel de 13 cepas ya caracterizadas, a considerar como aisladas de hemocultivo.
- Coordinadores: Virgen Macarena y HUSE ►  
sensibilidad: Etest,  $\mu$ dilución, difusión discos.
- Se solicita a los centros: sensibilidad a ATM, CAZ, FEP, IMP, MER, PTZ, CIP, AMK, GEN, TOB y COL.  
Emisión de las CCC y CCI según los puntos de corte usados, tests adicionales, inferencia de mecanismos de resistencia, y aplicación de medidas de control.
- **Análisis**

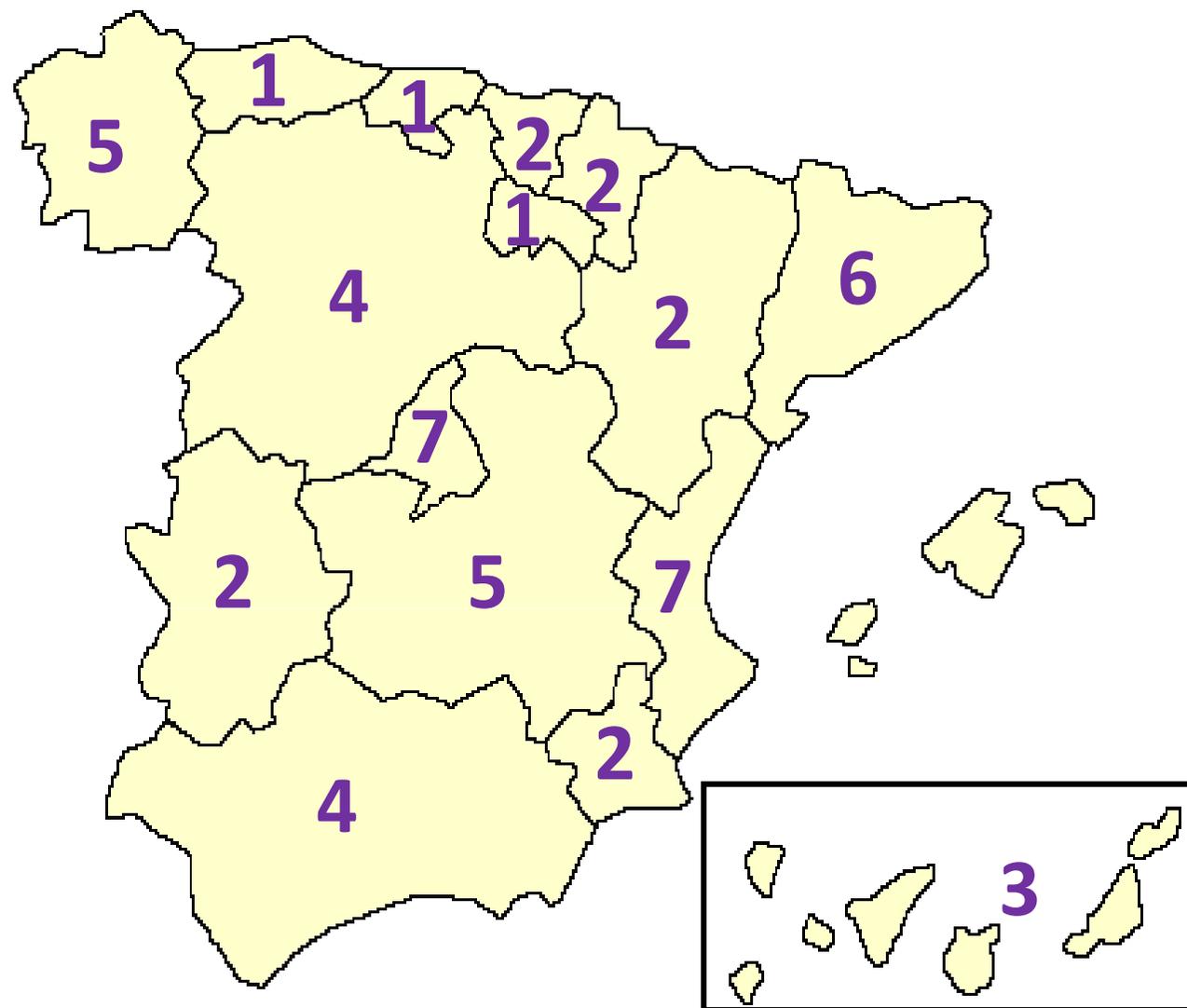
<b>STRAIN</b>	<b>No.</b>	<b>FEATURES</b>
PAO1	CC-01	Wild type
PAO $\Delta$ dB	CC-02	PAO1 AmpC $\uparrow$
PAOD1	CC-03	PAO1 OprD-
PAOD1 $\Delta$ dB	CC-04	PAO1 OprD-, AmpC $\uparrow$
71702-07	CC-05	MexXY-OprM $\uparrow$ , PSE-1 clinical isolate (CAZ-S, FEP-R phenotype)
1B2-RCA2	CC-06	PER-1 ESBL-producing clinical isolate
PAjun08	CC-07	OXA-161 ESBL-producing clinical isolate
PAV2-1	CC-08	VIM-2 MBL-producing clinical isolate
PA-A1	CC-09	GES-5 ESBL-producing clinical isolate
PAONB	CC-10	PAO1 <i>nfxB</i> ( MexCD-OprJ $\uparrow$ )
PAODMR	CC-11	PAO1 <i>mexR</i> (MexAB-OprM $\uparrow$ ), OprD-
PAOADM	CC-12	PAO1 <i>ampD</i> (AmpC $\uparrow$ ), <i>mexR</i> (MexAB-OprM $\uparrow$ )
ATCC 27853	CC-13	Reference strain



# RESULTADOS



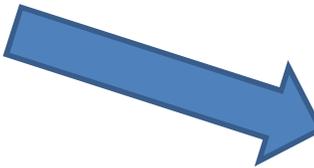
- **Distribución geográfica de los 54 centros participantes**



**1: Estudio descriptivo del uso de puntos de corte EUCAST / CLSI (2011), sistemas / métodos manuales utilizados y discrepancias en las CC, derivadas de su uso**

Cepa	Puntos de Corte (2011)		Dispositivos / técnicas utilizados						
	CLSI N (%)	EUCAST N (%)	VITEK2 N (%)	MicroScan WA N (%)	Wider N (%)	Otros automat. N (%)	Difusión discos N (%)	Dilución caldo N (%)	E-test N (%)
CC-01	506(86,79)	77(13,21)	169(28,99)	141(24,19)	185(31,73)	42(7,20)	25(4,29)	11(1,89)	9(1,54)
CC-02	514(86,68)	79(13,32)	175(29,51)	150(25,30)	180(30,35)	85(14,33)	41(6,91)	11(1,85)	19(3,20)
CC-03	504(86,60)	78(13,40)	169(29,04)	139(23,88)	183(31,44)	42(7,22)	27(4,64)	9(1,55)	13(2,23)
CC-04	491(84,36)	91(15,64)	156(26,80)	138(23,71)	188(32,30)	44(7,56)	20(3,44)	19(3,26)	16(2,75)
CC-05	504(84,99)	89(15,01)	161(27,15)	140(23,61)	190(32,04)	42(7,08)	26(4,38)	16(2,70)	18(3,04)
CC-06	480(87,43)	69(12,57)	146(26,59)	129(23,50)	178(32,42)	42(7,65)	16(2,91)	9(1,64)	29(5,28)
CC-07	501(86,08)	81(13,92)	164(28,18)	139(23,88)	184(31,62)	43(7,39)	18(3,09)	20(3,44)	14(2,41)
CC-08	504(88,11)	68(11,89)	161(28,15)	141(24,65)	181(31,64)	42(7,34)	17(2,97)	11(1,92)	19(3,32)
CC-09	503(84,82)	90(15,18)	168(28,33)	148(24,96)	187(31,53)	42(7,08)	26(4,38)	11(1,85)	11(1,85)
CC-10	503(84,82)	90(15,18)	166(27,99)	150(25,30)	191(32,21)	42(7,08)	26(4,38)	11(1,85)	7(1,18)
CC-11	491(85,99)	80(14,01)	159(27,85)	131(22,94)	181(31,70)	42(7,36)	18(3,15)	11(1,93)	29(5,08)
CC-12	503(86,43)	79(13,57)	167(28,69)	140(24,05)	181(31,10)	42(7,22)	16(2,75)	21(3,61)	15(2,58)
CC-13	503 (86,43)	79(13,57)	165(28,35)	150(25,77)	182(31,27)	42(7,22)	25(4,30)	11(1,89)	7(1,20)
TOTAL	6507(86,1)	1050(13,9)	2126(28,1)	1836 (24,3)	2391(31,6)	592(7,8)	301(3,9)	171(2,3)	206(2,73)
RANGOS	(81,13 a 90,38)	(9,62 a 18,87)	(19,23 a 30,77)	(19,23 a 26,41)	(26,92 a 34,61)	(5,56 a 14,33)	(1,85 a 7,70)	(0 a 3,84)	(0 a 15,69)

DISCREPANCIAS DEBIDAS SÓLO A APLICAR EUCAST /CLSI (2011)			
Cepa	Atb	Nº	%
CC-01	ATM	7	13,2
CC-02	ATM	9	16,6
CC-04	ATM	8	15,1
CC-04	MER	5	9,4
CC-04	PTZ	4	7,5
CC-07	ATM	8	15,1
CC-10	ATM	7	12,9
CC-13	ATM	7	13,2



Por ejemplo:

CMI de ATM=8 mg/L;; CLSI=S / EUCAST=I  
 CMI de PTZ=64 mg/L; CLSI=S/ EUCAST= R

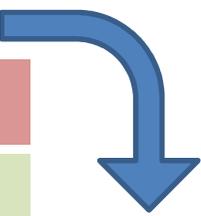
**Estas discrepancias sólo suponen un 1,7% del total de determinaciones de todas las cepas y antibióticos**

### INTERPRETACIONES

CCI: S▶I S▶r S▶R I▶R	
Nº (%)	RANGO
343 (4,53)	de 0 a 26,41 %



(Considerando el total de determinaciones de todas las cepas y antibióticos)



DESTACAN

- CC-07: 8,76%
  - FEP: 8,13%
  - ATM: 7,41%
  - CC-04/MER
  - CC-07/ATM ,FEP
- } ≈25%

# CCIs: S - I - R

- Cepas salvajes (CC-01, CC-13) y las CC-06, CC-09, las que mayor consenso generan entre todos los participantes.
- En cambio, ciertas combinaciones: como ATM, FEP, PTZ en las cepas CC-02, CC-04 y CC-05 muestran % muy similares en las tres CCI.





Amarillo: valor mayoritario, tanto en CCC como CCI. Rojo: discrepancia en la CC mayoritaria, al comparar CCC con CCI

CEPA	ATB	CATEGORIA CLÍNICA CRUDA (CCC: sea EUCAST o CLSI)			CATEGORÍA CLÍNICA INTERPRETADA (CCI)			
		% S	% I	% R	% S	% r	% I	% R
CC-02	ATM	42,59	40,74	16,67	29,63	3,70	38,89	27,78
(AmpC+)	FEP	25,93	46,30	27,78	22,22	1,85	35,19	40,74
	CAZ	1,85	29,63	68,52	1,85	1,85	24,07	72,22
	IMP	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00
	MER	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00
	PTZ	51,85	1,85	46,30	46,30	0,00	1,85	51,85

Sólo un 4,5% del total de las CCI emitidas supusieron un cambio al alza en la categorización final, con respecto a la CCC.

Se resalta en amarillo la CCI (S,I o R, considerando las "r" como "I") mayoritaria analizando todos los datos; En rojo, cuando el valor mayoritario según el dispositivo utilizado concreto, difiere del valor mayoritario general.

CEPA	ATB	VITEK2			MicroScan WA			Wider		
		% S	% I	% R	% S	% I	% R	% S	% I	% R
CC-08	ATM	14,3	85,7	0,0	73,3	20,0	6,7	73,3	20,0	6,7
(VIM-2)	FEP	0,0	6,7	93,3	0,0	13,3	86,7	0,0	0,0	100,0
	CAZ	0,0	0,0	100,0	0,0	13,3	86,7	0,0	6,7	93,3
	IMP	0,0	0,0	100,0	6,7	6,7	86,7	7,7	0,0	92,3
	MER	6,7	0,0	93,3	0,0	23,1	76,9	0,0	30,8	69,2
	PTZ	23,1	0,0	76,9	86,7	6,7	6,7	75,0	6,3	18,8

CLSI: tendencia a infravalorar la resistencia; VITEK2: ligado a EUCAST mayoritariamente, de ahí que discrepe al alza respecto de los demás dispositivos

**2: Análisis de las discrepancias**  
**observadas en los resultados del**  
**estudio de sensibilidad antibiótica con**  
**respecto a los obtenidos por los**  
**centros de referencia:**  
**mE, ME, VME**

# Errores respecto de las CC de referencia

- mE ▶ CC de referencia “I” + CC a evaluar “S o R”**
  - ▶ CC de referencia “S o R” + CC a evaluar “I”
- ME ▶ CC de referencia “S” + CC a evaluar “R”**
- VME ▶ CC de referencia “R” + CC a evaluar “S”**

Para aquellas combinaciones cepas-antibiótico con discordancia de un escalón entre los dos centros de referencia se consideró aquella CC más favorable para el centro evaluado.

Cuando un valor numérico dio lugar a dos CC diferentes según EUCAST / CLSI, se eligieron los puntos de corte más favorables para la concordancia con la CC emitida por el centro evaluado.

Las combinaciones cepa-antibiótico con discordancia S-R entre las CCC de los centros de referencia se consideraron como no interpretables (NI), y por tanto, no se pudieron calcular errores en estos casos.

PTZ , al no existir categoría I, los valores de CMI superiores a 16 e inferiores a 64 mg/L, según se use CLSI o EUCAST comportan discrepancias S / R entre los dos puntos de corte. Así, según las anteriores premisas, cualquier resultado se debería considerar como correcto, y por tanto, no se pudieron asignar errores.

	ATM			FEP			CAZ			IMP			MER			PTZ		
Cepa	CMI	CCC	CCI	CMI	CCC	CCI	CMI	CCC	CCI	CMI	CCC	CCI	CMI	CCC	CCI	CMI	CCC	CCI
	CL/EU			CL/EU			CL/EU						CL/EU			CL/EU		
CC-01	4	S/I	S/I	1	S	S	1-4	S	S	1	S	S	0,5	S	S	4	S	S
CC-02	8-16	S/I	r/I/R	4-8	S	r/I/R	32	R	R	1	S	S	0,5	S	S	32-64	S/R	NI
CC-03	4	S/I	S/I	1	S	S	2	S	S	8	I	I/R	2	S	S/r	4	S	S
CC-04	8-16	S/I	r/I/R	4-8	S	r/I/R	32	R	R	8	I	I/R	2	S	S/r	32	S/R	NI
CC-05	0,25-0,5	S	S	8-16 (24)	S-I/S-R (R)	I/R	2	S	S	4	S	S/r	≤0,125	S	S	1-32 (3-8)	S/R (S)	NI
CC-06	>128	R	R	32	R	R	>128	R	R	8	I	I/r	16	R	R	16-32	S/R	NI
CC-07	8	S/I	NI	4	S	NI	64-128	R	R	4	S	S/r	2	S	S/r	4-8	S	S
CC-08	8	S/I	S/r/I	32	R	R	64-128	R	R	64-128	R	R	16-32	R	R	32-64	S/R	NI
CC-09	>128	R	R	>128	R	R	>128	R	R	32	R	R	128	R	R	>128	R	R
CC-10	1-4	S/I	S/I	4-8	S	r/I/R	2-4	S	S	≤0,125-1	S	S	≤0,125-1	S	S	2-4	S	S
CC-11	32	R	R	4	S	S/r	4-8	S	S/r	8	I	I/R	16	R	R	16-32	S/R	NI
CC-12	32	R	R	8-16	S/I/R	NI	32	R	R	1	S	S	4-8 (8-12)	S-I/I-R (I-R/R)	I/R	32-64	S/R	NI
CC-13	4	S/I	S/I	1	S	S	1-4	S	S	1-2	S	S	0,25-0,5	S	S	4	S	S



ATB	% discrep. CCC/CCI con los coord.	% de errores en las CCC/CCI											
		Todas las técnicas			MicroScan WA			Wider			VITEK		
		mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME
PTZ	6,5/7,8	0,9/1,9	0/0,4	33,3/ 22,2	0,3/0,3	0/0	16,7/ 11,1	0,3/0,3	0/0	14,8/ 9,3	0,3/ 0,9	0/0,4	0/0
ATM	5,3/10,8	4,8/9,8	3,7/9,3	0,5/0,5	1,6/4,1	1,9/ 3,7	0,5/0,5	0,6/3,7	0/0	0/0	0,9/0	0/1,9	0/0
CAZ	10,2/ 10,6	7,8/7,5	2,8/4,7	1,9/1,6	3,6/3,2	0,9/ 1,6	1,1/1,1	2/1,9	0,3 /0,3	0,3/ 0,3	1,2/ 1,7	0,3/ 0,9	0/0
FEP	16,5/7,6	10,2/ 5,7	9,4/3,8	0/0	3,5/0,7	0,9/1	0/0	1,9/2,1	3,8/1	0/0	3,5/ 1,7	2,1/ 0,5	0/0
IMP	28,9/ 15,1	26,5/ 12,5	3,7/4,3	2,8/1,9	8,9/3,8	0,5/ 1,3	0,9/0	6,4/4,2	0,3/ 0,5	0,9/ 0,9	3,5/ 2,8	1,1/ 1,3	0/0
MER	13,2/ 14,7	11,7/ 12,9	1,9/3,6	1/1	3,2/3,3	0,2/ 1,7	0/0	3,6/3,6	0/0	0/0	2,9/ 3,2	0/0	0,5/0, 5
TOTAL	14,1/ 11,5	11,3/ 9,1	3,9/3,7	2,8/2,1	3,8/2,9	0,6/ 1,1	1,4/1	2,7/2,9	1/0,3	0,9/ 0,6	2,2/ 1,8	0,8/ 0,6	0,1/0 1

- Los % de **VME** (falsa sensibilidad) para los beta-lactámicos fueron bajos, <3%, excepto PTZ (VME crudos e interpretados: 33,3% y 22,6% respect). Estos VME se asociaron a la cepa CC-09 (GES-5) y casi exclusivamente en usuarios de los sistemas automatizados **MicroScan Walkaway** (50% del total de los VME crudos para este antimicrobiano y 51% de los interpretados) y **Wider** (45% del total de los crudos y 43% de los interpretados). (% usando como denominador el nº total de determinaciones de las cepas R a cada ATB)
- Los **ME** (falsa resistencia), también < 5%, excepto para FEP, en el caso de los crudos (9,4%) y ATM en el caso de los interpretados (9,3%). El 85% de los ME crudos para FEP se dieron en las cepas hiperproductoras de AmpC CC-02 y CC-04. (% usando como denominador el nº total de determinaciones de las cepas S a cada ATB)
- Los elevados porcentajes de **mE** observados no resultan sorprendentes, dados los valores de CMI que presentan las cepas de esta colección, en muchos casos en la frontera entre dos CC. (% usando como denominador el nº total de determinaciones=54x13)

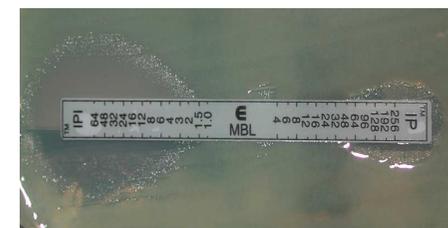
Cepa	% errores en las CCC/CCI											
	Todas las técnicas			MicroScan WA			Wider			VITEK		
	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME
CC-01	0,6/0,9	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0,3/0,3	0/0	0/0
CC-02	17,8/14	7/0	3,7/1,9	6,7/6,5	0,9/0	1,9/1,9	3,3/7	2,8/0	0/0	4,1/0	0,4/0	0/0
CC-03	10,8/4,4	1,1/1,5	0/0	4,1/1,6	0/0,4	0/0	2,5/0,6	0/0	0/0	1/1,3	0/0	0/0
CC-04	33,7/22,1	14,8/7,8	5,7/5,7	12,6/10	1,9/3,9	1,9/1,9	7,7/6,7	5,2/0	1,9/1,9	6,1/1,9	2,6/0	0/0
CC-05	9,9/7	4,2/5,1	0/0	1,9/1,9	1,9/3,3	0/0	4,1/4,9	0/0	0/0	0,4/0,4	0/1,4	0/0
CC-06	14,1/17,9	0/0	0/0	4,4/4,8	0/0	0/0	2,8/4	0/0	0/0	2,4/2,8	0/0	0/0
CC-07	11,4/21	4,9/8,3	0/0	4,8/7,1	0/1,3	0/0	1,9/3,8	0,4/0,6	0/0	2,2/5,2	1,5/3,8	0/0
CC-08	6,6/5,1	0/0	2,4/1,9	3,5/2,7	0/0	0,5/0	1,9/1,6	0/0	0,5/0,5	0,4/0,4	0/0	0,5/0,5
CC-09	0,6/0,3	0/0	5,6/3,7	0,3/0,3	0/0	2,8/1,9	0,3/0	0/0	2,5/1,6	0/0	0/0	0/0
CC-10	1,2/1,1	0/0,8	0/0	0,6/0	0/0,8	0/0	0/0,4	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
CC-11	26,7/13,2	6,7/11,5	0/0	6,6/1,9	0/1,9	0/0	7/6,6	2,9/2,9	0/0	5/7	1/1,9	0/0
CC-12	25,7/25,4	1,9/3,8	1,9/1,9	7,1/6,7	1,9/1,9	1,9/1,9	6,7/6,2	0/1,9	0/0	7,6/8,1	0/0	0/0
CC-13	0,6/0,6	0,6/0,9	0/0	0,6/0,3	0,3/0,6	0/0	0/0,3	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

- Mayores % **VME crudos/interpretados**: **CC-04**, (AmpC+OprD-) (5,7 /5,7%) y cepa **CC-09** (GES-5) (5,6/3,7%). Estos **VME** en CC-04 se asociaron a CAZ, y en CC-09, a PTZ.
- CC-04 mostró los mayores % de **ME crudos** (14,8%), asociados a FEP (83% de ellos) y MER (16% de los ellos), seguida de CC-02 (AmpC+)(7%), asociados a FEP, y CC-11 (MexAB-OprM+ OprD- ) (6,7%), asociados a FEP (57% de ellos) y CAZ (43% de ellos).
- Mayores % **ME interpretados**: CC-11 (11,5%), asociados a FEP (53% de ellos) y CAZ (47% de ellos), seguida por CC-07 (OXA-161) (8,3%), asociados a IMP (83% de ellos) y MER (17% de ellos) y CC-04 (7,8%), asociados a MER.
- % usando como denominadores: el nº total de determinaciones de los Beta-lactámicos a los que es R la cepa en cuestión (VME), a los que es S (ME), o a todos (mE).

**3: Análisis de la inferencia de los  
mecanismos de resistencia,  
realización de tests complementarios  
para la detección de beta-lactamasas  
adquiridas y aplicación de medidas de  
contención de diseminación de la  
resistencia**

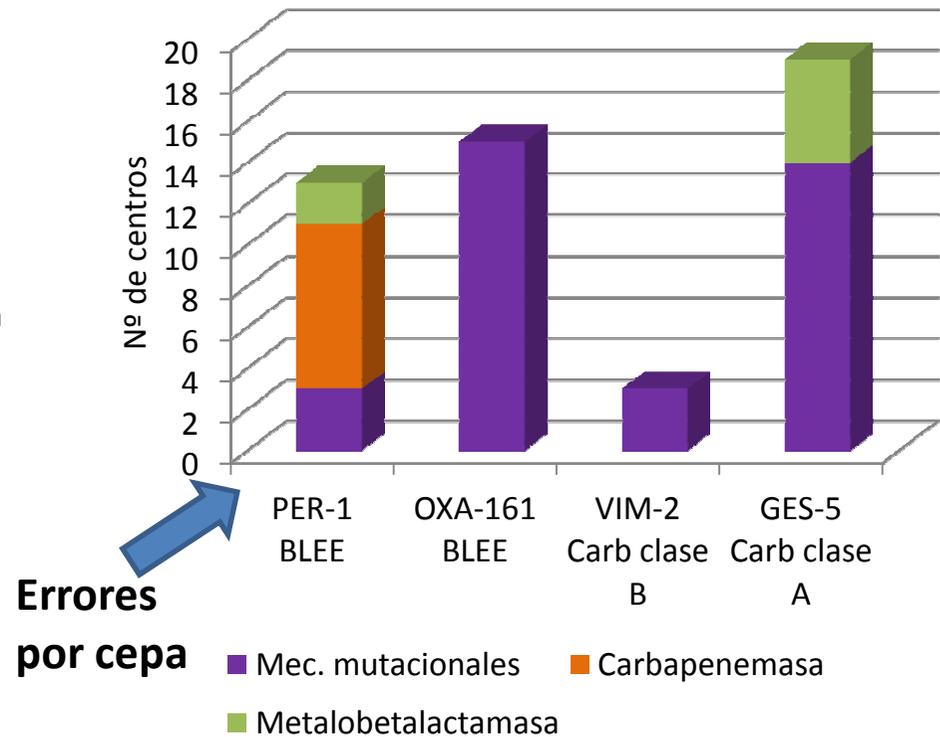
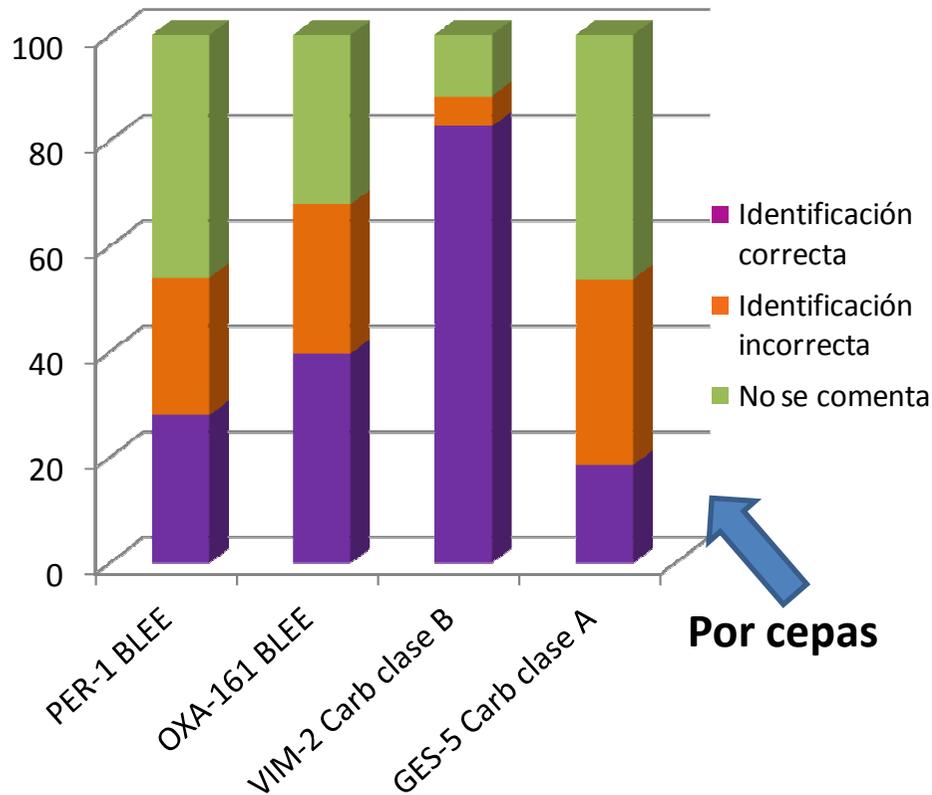
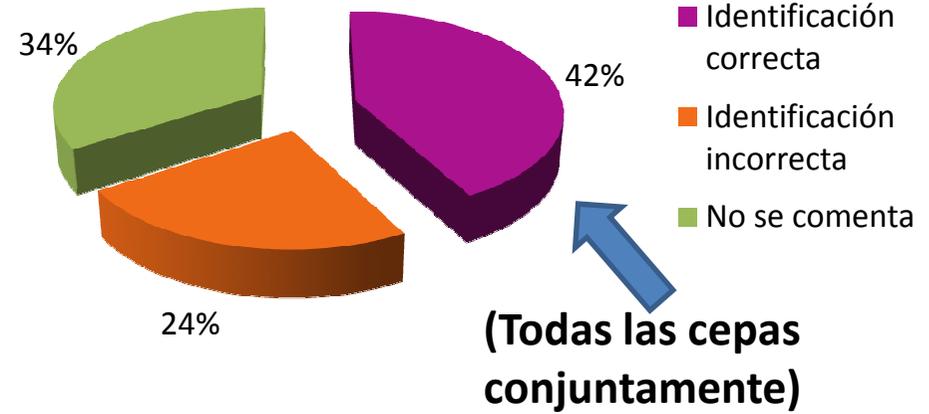
CEPA	MECANISMO CORRECTO	INCORRECTO	NO INFERIDO	TEST COMPLEMENTARIO (BLEE)			TEST COMPLEMENTARIO (CARBAPENEMASAS)			MEDIDAS CONTROL
				Nº (%) Labs.	Nº (%) Labs. test correcto	Nº (%) Labs. test incorrecto	Nº (%) Labs.	Nº (%) Labs. test correcto	Nº (%) Labs. test incorrecto	
CC-01	NA	1 (1,88)	NA	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1,88)	1 (1,88)	0 (0)	0 (0)
CC-02	28 (51,85)	4 (7,40)	22 (40,74)	6 (11,11)	5 (9,26)	1 (1,85)	1 (1,85)	1 (1,85)	0 (0)	0 (0)
CC-03	39(73,58)	1 (1,88)	13 (24,52)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	11 (20,75)	11 (20,75)	0 (0)	1 (1,88)
CC-04	23(43,39) [8 (15,09)]	12 (22,64)	18 (33,96)	7 (13,2)	7 (13,2)	0 (0)	16 (30,18)	13 (24,52)	3 (5,66)	7 (13,2)
CC-05	18 (33,33) [17 (31,48)]	6 (11,11)	30 (55,55)	7 (12,96)	3 (5,55)	4 (7,4)	3 (5,55)	3 (5,55)	0 (0)	2 (3,7)
CC-06	14 (28)	13 (26)	23 (46)	12 (24)	12 (24)	0 (0)	17 (34)	15 (30)	2 (4)	11 (22)
CC-07	21 (39,62)	15 (28,3)	17 (32,07)	12 (22,64)	8 (15,09)	4 (7,54)	11 (20,75)	11 (20,75)	0 (0)	7 (13,2)
CC-08	43 (82,69)	3 (5,76)	6 (11,53)	3 (5,76)	3 (5,76)	0 (0)	36 (69,23)	36 (69,23)	0 (0)	23(44,23)
CC-09	10 (18,51)	19 (35,18)	25 (46,29)	8 (14,81)	2 (3,7)	6 (11,11)	29 (53,7)	26 (48,15)	3 (5,55)	22 (40,74)
CC-10	1 (1,85)	16 (29,62)	37 (68,51)	1 (1,85)	1 (1,85)	0 (0)	2 (3,7)	2 (3,7)	0 (0)	1 (1,85)
CC-11	17 (32,69) [10 (19,23)]	11 (21,15)	24 (46,15)	5 (9,61)	5 (9,61)	0 (0)	19 (36,53)	15 (28,84)	4 (7,69)	2 (3,84)
CC-12	24 (45,28) [17 (32,07)]	2 (3,77)	27 (50,94)	5 (9,43)	5 (9,43)	0 (0)	7 (13,2)	7 (13,2)	0 (0)	4 (7,54)
CC-13	NA	3(5,66)	NA	1 (1,88)	1 (1,88)	0 (0)	1 (1,88)	1 (1,88)	0 (0)	0 (0)

Cepa	Mecanismo	Inferencias erróneas	Descripción de los mecanismos erróneos
		Nº (%)	(Nº)
CC-01	PAO1	1 (1,88)	Plasmid beta-lactamase (1)
CC-02	PAOdB	4 (7,40)	OXA-type ESBL (4)
CC-03	PAOD1	1 (1,88)	Wild type (1)
CC-04	PAOD1dB	12 (22,64)	ESBL (4); Carbapenemase (3); MBL (4); MexEF hyperexpression(1)
CC-05	MXYPSE-1	6 (11,11)	ESBL (2); AmpC hyperproduction (4)
CC-06	PER-1	13 (26)	Resistance exclusively due to mutational mechanisms (3); Carbapenemase (8); MBL (2).
CC-07	OXA-161	15 (28,3)	Resistance exclusively due to mutational mechanisms (15)
CC-08	VIM-2	3 (5,76)	Resistance exclusively due to mutational mechanisms (3)
CC-09	GES1+5	19 (35,18)	MBL (5); Resistance exclusively due to mutational mechanisms (14)
CC-10	PAONB	16 (29,62)	Wild type (11); OprD loss (1); OXA-type ESBL (1); gyrase mutation (3)
CC-11	PAOD1MR	11 (21,15)	GES-2 (1); MBL (1); ESBL (1); narrow spectrum class A beta-lactamase (4); OXA-type ESBL (1); carbapenemase (3)
CC-12	PAOADMIR	2 (3,77)	Cefalosporinase (Not AmpC) (1); Class D carbapenemase (1)
CC-13	ATCC	3(5,66)	OprD loss (1); GyrA mutation (1); AmpC hyperproduction + ESBL (1)



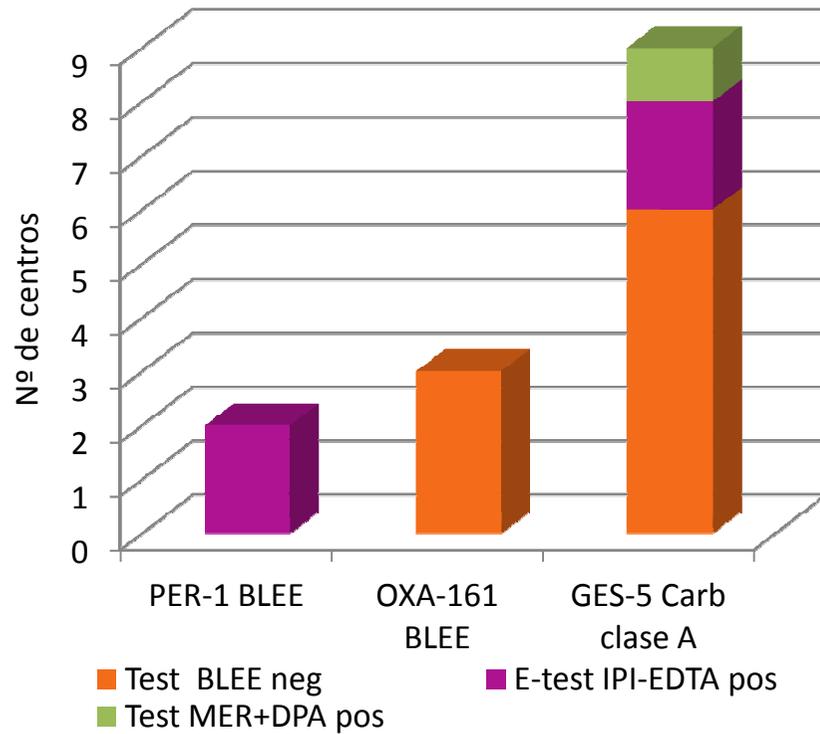
**Resultados referidos sólo a las cepas con beta-lactamasas adquiridas: CC-06 a -09 (póster 538)**

**Identificación mec. de resistencia subyacente:**

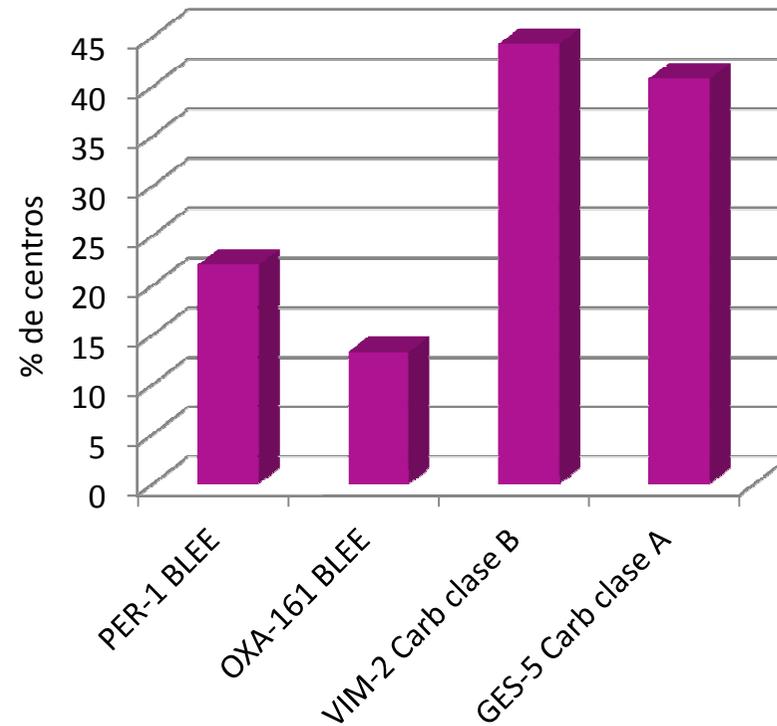


# Resultados referidos sólo a las cepas con beta-lactamasas adquiridas

- Pruebas complementarias con resultado incorrecto:



- Recomendación de adopción de medidas de aislamiento:



# CONCLUSIÓN

En un patógeno nosocomial tan relevante y de tanta capacidad para el desarrollo de resistencia a los antibióticos, como es *Pseudomonas aeruginosa*:

- ▶ El uso de diferentes puntos de corte y técnicas para la determinación de la sensibilidad a los beta-lactámicos;
- ▶ La **complejidad** de sus mecanismos adicionales de resistencia;
- ▶ Y la falta de tests estandarizados y de **resultados inequívocos** para detectar BLEEs y carbapenemasas;

provocan una extraordinaria variabilidad y falta de precisión en los resultados emitidos por los laboratorios, con importantes consecuencias negativas sobre la efectividad de los tratamientos y el control de las infecciones por *P. aeruginosa*.

# Proficiency of Spanish laboratories for accurate susceptibility testing, detection, and interpretation of $\beta$ -lactam resistance phenotypes in *Pseudomonas aeruginosa*

Carlos Juan<sup>1</sup>, Carmen Conejo<sup>2</sup>, Nuria Tormo<sup>3</sup>, Concha Gimeno<sup>4</sup>, Alvaro Pascual<sup>5</sup> and Antonio Oliver<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca. <sup>2</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Virgen Macarena, Sevilla. <sup>3</sup>Hospital General de Valencia, Valencia, SPAIN.

## INTRODUCTION

*Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance, and particularly multidrug resistance (MDR), is increasing world-wide, determining a major limitation for the treatment of severe nosocomial infections and it is therefore associated with a high mortality rate. Moreover, there is a growing complexity in the involved mechanisms, including diverse combinations of mutational and transferable resistance determinants, that may significantly differ in their optimal epidemiological (infection control) and/or therapeutic approaches. Therefore, proficient susceptibility testing, the use of harmonized interpretation criteria, and accurate inference of potentially involved resistance mechanisms, are key aspects for appropriate treatment and control of infection by MDR *P. aeruginosa*.

## OBJECTIVE

To evaluate the proficiency of Spanish laboratories for accurate susceptibility testing, detection, and interpretation of *P. aeruginosa*  $\beta$ -lactam resistance phenotypes.

## METHODS

A panel of 13 previously characterized *P. aeruginosa* strains (TABLE 1) were sent to 54 participating Spanish hospitals. The centers were requested to use their routine approach to evaluate the susceptibility to 6  $\beta$ -lactam [cefazidime (CAZ); cefepime (FEP), aztreonam (ATM), piperacillin-tazobactam (PTZ), imipenem (IMP) and meropenem (MER)] and 5 non- $\beta$ -lactam (colistin, amikacin, gentamicin, tobramycin and ciprofloxacin) antipseudomonal antibiotics (ATB), provide the raw/interpreted clinical categories (RCC/ICC, respectively), and infer the potential resistance mechanisms; reporting the additional tests used in each case. They were also requested to report if they would have suggested the implementation of infection control measures. Consensus results, obtained by CLSI broth microdilution from two reference centers (TABLE 2) were used to assign minor, major or very major errors (mE, ME or VME) in the CGs.

## RESULTS (I)

### Breakpoints and most widely used devices/techniques

CLSI / EUCAST breakpoints (year 2011) were used in approx. 86 / 14% of the determinations respectively.

Vitek2, MicroScan Walkaway (WA) and Wider were the most frequently used devices, each accounting for 25-30%. Other automatic devices, such as Phoenix and Sentrifire were used by a small number of hospitals (2 for each device). Moreover, certain manual techniques such as disk diffusion and E-test were mainly used as additional tests for detection of acquired  $\beta$ -lactamase.

## RESULTS (II)

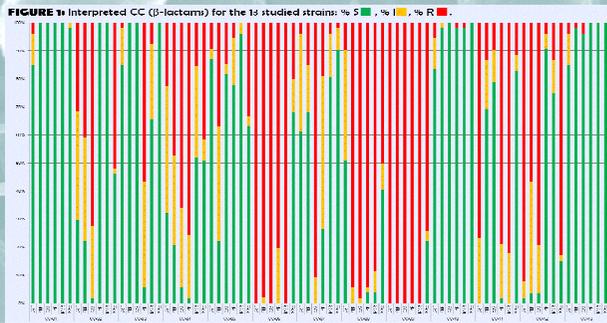
### Variability of ICCs per strain and ATB provided by the participating centers (Figure 1)

Highest agreement on the ICCs was documented for the susceptible (CC-01 and CC-13) and highly resistant strains (CC-06 and CC-05). On the other hand, a high variability was observed for certain combinations of strain-ATB, particularly when involving ATM, FEP or PTZ and strains CC-02, CC-04 and CC-05.

The overall observed RCC discrepancies **exclusively** due to the application of different breakpoints (CLSI vs EUCAST) was approx. 17% of the sum of all determinations, but was highest in certain strains (reaching up to 15%) for ATM, followed by PTZ and MER.

TABLE 1. Strains sent to participating hospitals.

STRAIN	No.	FEATURES
PAOI	CC-01	Wild type
PAO1 $\Delta$ EB	CC-02	PAOI AmpC $\uparrow$
PAO01	CC-03	PAOI OprD $\uparrow$
PAO01 $\Delta$ EB	CC-04	PAOI OprD $\uparrow$ , AmpC $\uparrow$
17102-07	CC-05	MexXY-OprM $\uparrow$ , PSE-1 clinical isolate (CAZ-5, FEP-R phenotype)
IB2-RCA2	CC-06	PER-1 ESBL-producing clinical isolate
PAJen08	CC-07	OXA-161 ESBL-producing clinical isolate
PAJ22-1	CC-08	VIM-2 IME-producing clinical isolate
PA-A1	CC-09	GES-5 ESBL-producing clinical isolate
PAONB	CC-10	PAOI $\Delta$ <i>trbA</i> (MaxCD-Opr1 $\uparrow$ )
PAODMR	CC-11	PAOI <i>mevA</i> (MexAB-OprM $\uparrow$ ), OprD $\uparrow$
PAODMR	CC-12	PAOI <i>ampD</i> (AmpC $\uparrow$ ), <i>mevA</i> (MexAB-OprM $\uparrow$ )
ATCC 27853	CC-13	Reference strain



RESULTS (III) mE, ME and VME in the ICCs reported by the participating centers (Table 4 and 5)

Lowest % of VME were documented for Vitek2 users, followed by Wider and MicroScan, which showed the lowest % of ME, followed by Vitek2. The strains yielding the overall highest % of VME (coverage for all ATB close to 6%), were CC-4 (AmpC hyperproduction 1 OprD loss), and CC-9 (GES-5 producer), while among ATBs, the overall highest % of VME (22%) was documented for PTZ.

## RESULTS (IV)

Inference of resistance mechanisms (Table 5)

Appropriate inference of resistance mechanisms was high for the VIM-2 producing strain (84%) and the OprD mutant (74%), but low (<40%) for clinical strains producing ESBLs (PER-1 or OXA-161) or class A carbapenemase (GES-5). Combinations of different mechanisms were not usually correctly diagnosed, and wrongly, a considerable number of false positive / negative results in complementary tests was observed.

TABLE 2.  $\beta$ -lactam MICs and clinical categories (raw and interpreted) provided by the two reference hospitals.

Strain	ATM		FEP		CAZ		IMP		MER		PTZ	
	MIC (mg/L)	RCC										
CC-01	4	S	4	S	4	S	4	S	4	S	4	S
CC-02	8-16	S										
CC-03	4	S	4	S	4	S	4	S	4	S	4	S
CC-04	8-16	S										
CC-05	0.25-0.5	S										
CC-06	>128	R										
CC-07	8	S	8	S	8	S	8	S	8	S	8	S
CC-08	8	S	8	S	8	S	8	S	8	S	8	S
CC-09	>128	R										
CC-10	1-4	S										
CC-11	32	R										
CC-12	32	R										
CC-13	4	S	4	S	4	S	4	S	4	S	4	S

\*Determined by microdilution by the 2 reference centers. <sup>†</sup>Reduced susceptibility. <sup>‡</sup>Not interpretable due to discrepancies in the RCCs provided by the two coordinators; hence, no errors could be calculated in these cases.

TABLE 3. Distribution of errors per antibiotic and used device

Antibiotic	All the devices/techniques						MicroScan WA						Wider						Vitek2					
	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME			
PTZ	0/0/0	0/0/4	33/22/2	0/0/3	0/0	16/7/1	0/0/3	0/0	14/9/3	0/0/0	0/0/4	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
ATM	4/8/9	3/7/3	0/5/0	1/4/1	1/3/7	0/5/0	0/3/7	0/0	0/0	0/0	0/1/9	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CAZ	7/8/7	2/8/17	1/0/6	3/0/3	0/1/6	1/1/1	2/1/9	0/0/0	0/0/0	1/2/7	0/3/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
FEP	10/2/7	9/1/3	0/0	3/5/7	0/0/1	1/0/1	0/0/1	0/0	0/0	3/8/17	2/1/5	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
IMP	20/5/25	3/7/3	2/1/9	8/9/8	0/5/13	0/1/2	0/0/5	0/0/0	0/0/0	3/5/28	1/1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
MFR	17/1/9	1/0/6	1/1	3/2/3	0/2/7	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0/3	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
LOAL	11/3/1	3/3/7	2/8/1	3/8/7	0/6/1	1/4/1	7/7/7	1/0/3	0/0/6	7/1/8	2/0/6	0/0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		

TABLE 4. Distribution of errors per strain and used device

Strain	All the devices/techniques						MicroScan WA						Wider						Vitek2					
	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME			
CC-01	0/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-02	17/8/1	7/0	3/7/0	6/7/6	0/0/0	1/0/1	3/7/7	7/8/0	0/0	1/1/0	0/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-03	10/8/4	1/1/8	0/0	4/1/6	0/0/4	2/0/0	0/0/0	0/0/0	0/0	1/3/3	0/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-04	33/7/21	14/8/7	8/7/7	12/6/13	1/0/3	1/0/1	7/7/6/7	8/2/0	1/0/1	6/1/9	2/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-05	9/7	4/2/1	0/0	1/0/1	1/0/3	0/0	4/1/0	0/0	0/0	0/0/0/4	0/1/4	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-06	14/17/9	0/0	0/0	4/4/8	0/0	0/0	2/8/4	0/0	0/0	2/4/2/8	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-07	11/21	4/9/3	0/0	4/7/3	0/1/1	0/0	1/0/3/8	0/4/0/0	0/0	2/2/3/2	1/2/3/8	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-08	6/0/5	0/0	2/4/1/9	3/1/2/7	0/0	0/5/0	1/0/1/0	0/0	0/0/0/5	0/4/0/4	0/0	0/0/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-09	0/0/0/3	0/0	0/0/5/7	0/0/0/3	0/0	2/8/1/9	0/0/0	0/0	2/0/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-10	1/2/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-11	36/71/8	6/7/15	0/0	6/6/10	0/1/0	0/0	7/6/6	2/0/2/9	0/0	8/7/1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-12	25/7/25/4	1/0/8	1/0/5	7/16/7	1/0/1/9	1/0/1/9	6/7/6/2	0/1/0	0/0	7/6/8/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		
CC-13	0/0/0/6	0/0/0/9	0/0	0/0/0/3	0/0/0/0	0/0/0/0	0/0/0/0	0/0/0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0		

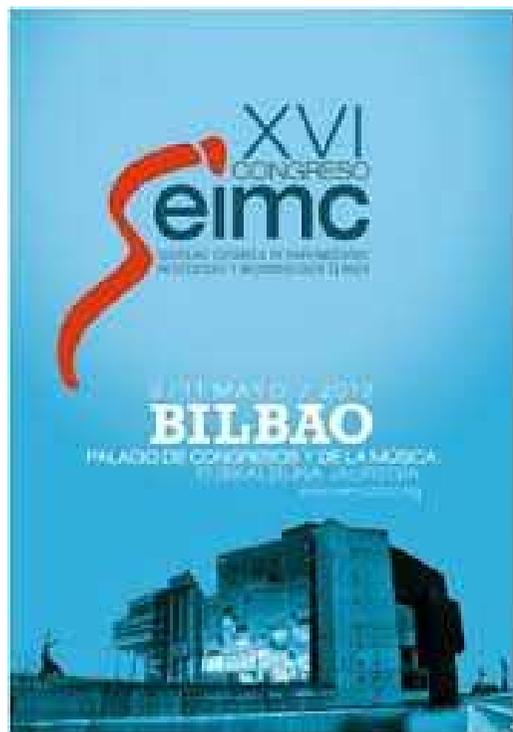
TABLE 5. Inference of resistance mechanisms, complementary tests performed, and implementation of infection control measures.

Strain	Right mechanism No. (%)	Wrong mechanism No. (%)	Not inferred No. (%)	Complementary test (ESBL)		Complementary test (Carbapenemase)		Control measures No. (%)		
				DurE test	HpaI test	DurE test	HpaI test		Winged test	Successful isolation
CC-01	19 (85.84)	1 (4.88)	33 (22.20)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.88)	1 (1.88)	0 (0)	0 (0)
CC-02	20 (91.65)	4 (18.18)	22 (40.74)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (1.85)	1 (1.85)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
CC-03	39 (73.58)	1 (8.88)	13 (24.52)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	11 (20.78)	11 (20.78)	0 (0)	1 (8.88)
CC-04	23 (13.39)	12 (22.61)	18 (33.96)	7 (13.2)	7 (13.2)	0 (0)	16 (30.38)	13 (24.52)	3 (5.66)	7 (13.2)
CC-05	18 (85.07)	6 (11.1)	30 (58.50)	7 (12.96)	4 (5.55)	4 (7.4)	4 (5.55)	4 (5.55)	0 (0)	7 (13.2)
CC-06	11 (38.1)	13 (26)	23 (46)	12 (24)	12 (24)	0 (0)	17 (34)	15 (30)	2 (4)	11 (22)
CC-07	21 (59.62)	10 (28.3)	17 (52.07)	12 (22.64)	11 (20.9)	4 (7.34)	11 (20.73)	11 (20.73)	0 (0)	7 (13.2)
CC-08	43 (87.09)	3 (5.76)	6 (10.8)	3 (5.76)	3 (5.76)	0 (0)	36 (69.2)	36 (69.2)	0 (0)	23 (44.7)
CC-09	10 (85.5)	19 (55.8)	22 (44.29)	0 (0.00)	2 (3.7)	0 (0.00)	29 (53.7)	26 (48.15)	0 (0.00)	22 (40.74)
CC-10	1 (8.85)	16 (29.62)	37 (68.55)	1 (1.85)	0 (0)	0 (0)	2 (3.7)	0 (0)	0 (0)	1 (8.85)
CC-11	17 (52.89)	11 (21.5)	21 (16.15)	5 (9.60)	5 (9.60)	0 (0)	19 (36.25)	15 (28.91)	1 (1.89)	2 (3.81)
CC-12	24 (16.36)	3 (7.77)	37 (60.4)	4 (6.13)	4 (6.13)	0 (0)	7 (11.3)	7 (11.3)	0 (0)	1 (7.5)
CC-13	22 (11.50)	3 (5.66)	29 (54.71)	1 (1.88)	1 (1.88)	0 (0)	1 (1.88)	1 (1.88)	0 (0)	0 (0)

Detailed correct inferences hospitals producing only one of several mechanisms for a particular strain.

Resultados preliminares y parciales, ya "publicados"





## Detección de $\beta$ -lactamasas de espectro extendido o carbapenemasas transferibles en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en los laboratorios de Microbiología Clínica españoles.

MC Conejo<sup>1</sup>, C Juan<sup>2</sup>, N Tormo<sup>3</sup>, C Gimeno<sup>3</sup>, A Oliver<sup>3</sup>, Á Pascual<sup>3,4</sup>, Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI).

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla. <sup>2</sup>Servicio de Microbiología, H. Universitario Son Espases, Palma de Mallorca. <sup>3</sup>Servicio de Microbiología, H. General de Valencia, Facultad de Medicina, Valencia. <sup>4</sup>Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, H. Universitario Virgen Macarena, Sevilla.

### Objetivo

Evaluar la capacidad de los laboratorios de Microbiología Clínica españoles para detectar la presencia de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) o carbapenemasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*.

### Material y Métodos

Cuatro aislados clínicos de *P. aeruginosa* productores de las  $\beta$ -lactamasas transferibles PER-1, OXA-161, GES-5 y VIM-2 (Tabla 1) fueron enviados a 54 laboratorios (Figura 1) a través del Programa de Control de Calidad SEMC. Se les pidió que emplearan los métodos rutinarios para la identificación y estudio de la sensibilidad antimicrobiana, considerando las cepas como aislados de hongos. Los laboratorios tenían que informar sobre el sistema o método utilizado para el estudio de la sensibilidad antimicrobiana, resultados obtenidos, puntos de corte usados, mecanismo de resistencia a  $\beta$ -lactámicos inferido, pruebas adicionales utilizadas y si realizaban alguna recomendación respecto a la adopción de medidas de aislamiento para prevenir la diseminación nosocomial. Los resultados fueron analizados por dos laboratorios centralizados (H.U. Virgen Macarena, Sevilla y H.U. Son Espases, Mallorca).

Tabla 1. Cepas incluídas en el estudio.

Cepa	HF	Características	Referencia
182-RCA2	CC-6	Aislado clínico productor de PER-1 (BLEE de clase A)	Juan C et al. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54:846-51
PAJun08	CC-7	Aislado clínico productor de OXA-161 (BLEE de clase II)	Juan C et al. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53:5288-90
PW2-1	CC-8	Aislado clínico productor de VIM-2 (carbapenemasas de clase B)	Juan et al. J Antimicrob Chemother. 2010; 65:474-8
PA-A1	CC-6	Aislado clínico productor de GES-5 (carbapenemasas de clase A)	Viedma E et al. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53:4930-3



Figura 1. Distribución geográfica de los 54 laboratorios participantes.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a todos los miembros de la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI) que colaboraron en este estudio. En particular, agradecemos a los miembros de la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI) que colaboraron en este estudio. En particular, agradecemos a los miembros de la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI) que colaboraron en este estudio. En particular, agradecemos a los miembros de la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI) que colaboraron en este estudio.



Servicio Andaluz de Salud  
CONSEJERÍA DE SALUD

### Resultados

La mayoría de los laboratorios (94%) utilizaron sistemas automatizados para el estudio de la sensibilidad antimicrobiana, siendo, por orden, Wise, MicroScan WalkAway y Vitek2 los de uso más extendido (25-30% de los centros). Para la asignación de categorías clínicas los puntos de corte aplicados fueron los del CLSI (86%) y los de EUCAST (14%). El mecanismo de resistencia a beta-lactámicos inferido no fue informado en el 34% de los casos, siendo la cepa productora de VIM-2 la que con mayor frecuencia fue informada, así como la que registró mayor porcentaje de aciertos, mientras que las cepas productoras de GES-5 y de PER-1 fueron las que con menor frecuencia se informaron y las que registraron menor porcentaje de aciertos (Figura 2). La mayoría de los errores se debieron a atribuir el fenotipo de resistencia observado a mecanismos mutacionales o a la obtención de resultados incorrectos en las pruebas complementarias realizadas (Figuras 3 y 4). La adopción de medidas de aislamiento fue recomendada por más del 40% de los centros en el caso de las cepas productoras de carbapenemasas, mientras que fueron muy inferiores en el caso de las cepas productoras de PER-1 y OXA-161 (Figura 3).

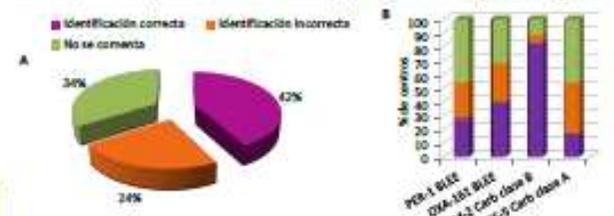


Figura 2. Centros que informan el mecanismo de resistencia a  $\beta$ -lactámicos subsiguiente (A: Global; B: Por cepa.)

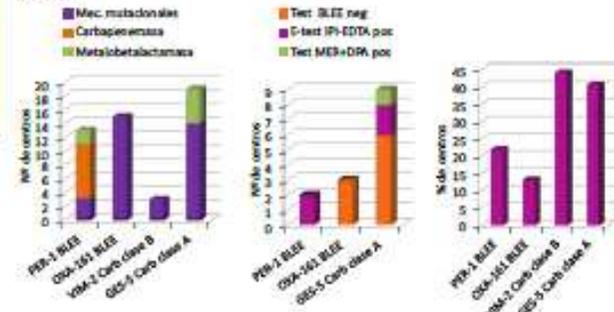


Figura 3. Errores observados en la identificación del mecanismo de resistencia a  $\beta$ -lactámicos subsiguiente.

### Conclusiones

La mayoría de los laboratorios españoles son capaces de identificar las carbapenemasas de clase B en *P. aeruginosa*. La incapacidad de identificar BLEE o carbapenemasas de clase A probablemente se debe a la inexistencia de pruebas fenotípicas que ofrezcan resultados fiables en un microorganismo con mecanismos basales de resistencia a los  $\beta$ -lactámicos complejos.

Hospital Universitario Virgen Macarena y Área

Contacto:  
Dr. Ángel Conejo  
Servicio de Microbiología  
Hospital Universitario Virgen Macarena  
Calle de San Fernando, 16  
41013 Sevilla, España  
Tel: 954 242 400  
Fax: 954 242 400  
E-mail: conejo@vma.es

# Agradecimientos

- **Centros participantes:** Complejo Hospitalario Universitario A Coruña (A Coruña), Complejo Hospitalario Arquitecto Marcide (Ferrol, A Coruña), Hospital General Universitario de Albacete (Albacete), Hospital General Universitario de Elche (Elche, Alicante), Hospital Vega Baja (Orihuela, Alicante), Hospital San Juan de Alicante (San Juan, Alicante), Hospital Comarcal Marina Baixa (Villajoyosa, Alicante), Hospital Infanta Cristina (Badajoz), Hospital Clínic (Barcelona), Hospital Sta. Creu i St. Pau (Barcelona), Hospital Universitario Vall d'Hebron (Barcelona), Laboratorio de Referencia de Cataluña (El Prat de Llobregat, Barcelona), Hospital Universitario de Bellvitge (L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona), Udiat Centre Diagnòstic, S.A. (CSPT) (Sabadell, Barcelona), Hospital San Pedro de Alcantara, C.H. de Cáceres (Cáceres), Hospital Universitario Puerta del Mar (Cádiz), Hospital General de Castellón (Castellón de la Plana), Hospital General Mancha-Centro (Alcázar de San Juan, Ciudad Real), Hospital Virgen de la Luz (Cuenca), Hospital de Cabueñes (Gijón), Hospital San Cecilio (Granada), Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada), Hospital General Universitario de Guadalajara (Guadalajara), Hospital General de Gran Canaria Dr. Negrín (Las Palmas de Gran Canaria), Hospital San Pedro (Logroño), Complejo Asistencial de León-Sacyl (León), Hospital Doce de Octubre (Madrid), Hospital General U. Gregorio Marañón (Madrid), Hospital Ramón y Cajal (Madrid), Hospital Universitario La Paz (Madrid), Hospital Universitario Fundación Alcorcón (Alcorcón, Madrid), Hospital Universitario de Getafe (Getafe, Madrid), Hospital Severo Ochoa (Leganés, Madrid), Hospital General Reina Sofía (Murcia), Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca (El Palmar, Murcia), Hospital Santa María Nai. C. Hospitalario Orense (Ourense), Clínica Universidad de Navarra (Pamplona), Hospital de Navarra (Pamplona), Complejo Hospitalario de Pontevedra (Pontevedra), Complejo Hospitalario Xeral-Cies (Vigo, Pontevedra), Hospital Clínico Universitario de Salamanca (Salamanca), Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander), Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla), Hospital Universitario de Canarias (La Laguna, Tenerife), Hospital N<sup>a</sup> Sra de la Candelaria (Santa Cruz de Tenerife, Tenerife), Hospital de Alcañiz (Alcañiz, Teruel), Hospital de Paraplégicos (Toledo), Consorcio Hospital General de Valencia (Valencia), Hospital de la Ribera (Alzira, Valencia), Hospital Clínico Universitario de Valladolid (Valladolid), Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid), Hospital de Cruces (Barakaldo, Vizcaya), Hospital de Basurto (Bilbao, Vizcaya), Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa (Zaragoza).
- Este proyecto ha sido auspiciado por la Red Española de Investigación de Investigación en Patología Infecciosa [(REIPI RD06/0008), Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III – FEDER] y el Grupo de estudio de los mecanismos de acción y resistencia a los antimicrobianos de la SEIMC (GEMARA).

# Agradecimientos

- A. Pascual
  - C. Conejo
  - C. Gimeno
  - N. Tormo
  - M. Oviés
  - A. Oliver
- Virgen Macarena, Universidad de Sevilla
- Control de Calidad SEIMC



Red Española de Investigación en Patología Infecciosa



Servicio Andaluz de Salud  
CONSEJERÍA DE SALUD

Hospital Universitario Virgen Macarena y Área