

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-1/14)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Empedobacter brevis*, anteriormente denominada *Flavobacterium brevis*. Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (Maldi-Tof) y fue confirmada mediante secuenciación del ARN ribosómico 16S de la misma. La historia clínica correspondía a la de un paciente varón de 58 años de edad, diagnosticado de leucemia linfática crónica desde hacía año y medio. Acudió al hospital por presentar, desde hacía una semana, un cuadro de malestar general, astenia, disnea a medianos esfuerzos y tos con expectoración abundante. La sensación disneica se había intensificado en las últimas 24 h y el paciente presentaba fiebre termometrada de 38°C, sin objetivarse mejoría a pesar del tratamiento con amoxicilina-ácido clavulánico. A la auscultación, se detectó una disminución del murmullo vesicular con crepitantes en base izquierda. La radiografía de tórax mostraba condensación basal en hemitórax izquierdo. Se tomó una muestra de esputo que fue remitido al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias, creciendo a las 48 h 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 en la hoja de respuesta los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que se estimasen oportunos. El objetivo principal de este control fue evidenciar la capacidad de los participantes para detectar e identificar una cepa de *E. brevis*.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 239 centros participantes, de los que 225 remitieron hoja de respuesta con respuestas valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 94,2%, muy similar al del último control (94,8%). El Programa de Control de Calidad aceptó como válida la identificación de *E. brevis* (respuesta óptima) y como aceptables las identificaciones incluidas en el género *Flavobacterium* y género *Chryseobacterium*.

Así, algo menos de la mitad de los centros (44,5%) identificaron correctamente el género y la especie, mientras que otro 42,3% informó *Chryseobacterium indologenes* (anteriormente *Flavobacterium indologenes*). En conjunto, un 92,0% de los centros respondieron alguna de las identificaciones aceptables para este control (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Empedobacter brevis</i>	100	44,5
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	95	42,3
Bacilo gramnegativo no fermentador	7	3,1
Género <i>Chryseobacterium</i>	4	1,8
Género <i>Flavobacterium</i>	3	1,4
Género <i>Myroides</i>	3	1,4
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	2	0,9
<i>Streptococcus bovis</i>	2	0,9
Bacilo grampositivo	1	0,4
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0,4
<i>Eikenella corrodens</i>	1	0,4
Género <i>Bacillus</i>	1	0,4
Género <i>Brevundimonas</i>	1	0,4
Género <i>Enterobacter</i>	1	0,4
<i>Kingella kingae</i>	1	0,4
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	0,4
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,4
Total	225	100,0

En este control, la gran mayoría de los centros (191, el 84,9%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 139 (61,8%) las usaron como único método (tabla 2). Respecto a la espectrometría de masas, de nuevo se observa la progresiva implantación de esta técnica entre los diferentes laboratorios de Microbiología, utilizada en este control por 49 participantes (21,8%), de los cuales en el 10,2% de las ocasiones fue el único método utilizado. Las pruebas manuales, fueron informadas por 31 laboratorios (13,8%), 5 de ellos (2,2%) de forma única. Por último, 6 laboratorios (2,7%) realizaron un estudio de secuenciación de la cepa para su identificación.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	139	61,8
Manual + comercial	25	11,1
Espectrometría de masas	23	10,2
Comercial + espectrometría de masas	23	10,2
Manual	5	2,2
Comercial + secuenciación	2	0,9
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	2	0,9
Secuenciación	2	0,9
Manual + espectrometría de masas	1	0,5
No informa	3	1,3
Total	225	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se muestran en la tabla 3, mientras que la capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 4.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Vitek 2	73	31,1	15,1
Microscan	60	25,6	65,0
Maldi-Tof	49	20,9	100,0
Galerías API			
API 20 NE	37	15,8	24,3
API 20 E	2	0,9	0,0
Wider	7	3,0	85,7
BBL Crystal	2	0,9	0,0
Phoenix	2	0,9	50,0
No especifica el sistema utilizado	2	0,9	100,0
Total	234	100,0	52,6

Tabla 4. Resultados de identificación del género *Flavobacterium* y relacionados con los sistemas mayoritarios.

Sistema	Número usuarios	<i>E. brevis</i>	<i>C. indologenes</i>	Género <i>Flavobacterium</i>	Género <i>Myroides</i>	Género <i>Chryseobacterium</i>	<i>E. meningoseptica</i>
Vitek 2	73	11 (15,1)	53 (72,6)	3 (4,1)	3 (4,1)	2 (2,7)	0 (0,0)
Microscan	60	39 (65,0)	12 (20,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (3,3)
Maldi-Tof	49	49 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
API 20 NE	37	9 (24,3)	27 (73,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Wider	7	6 (85,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Los mejores resultados se obtuvieron con el Maldi-Tof (tanto de las marcas Bruker como Vitek), identificando correctamente la especie de la cepa en el 100% de las ocasiones. A continuación le siguen los sistemas Wider y Microscan. En el caso del Wider, 6 de los 7 participantes que emplearon este sistema obtuvieron la identificación óptima de *E. brevis* (85,7%); mientras que, respecto al Microscan, 39 de los 60 laboratorios que utilizaron el Microscan (65,0%) identificaron correctamente la cepa.

En esta ocasión, los sistemas Vitek 2 y API 20 NE se han revelado insuficientes para alcanzar la identificación de la cepa. Así, sólo 11 de 73 participantes que informaron el Vitek 2 (15,1%), 9 de los cuales emplearon también el Maldi-Tof), y 9 de los 37 centros que utilizaron el API 20 NE (24,3%), remitieron la respuesta óptima de *E. brevis*. Asimismo, las frecuencias de identificación de *C. indologenes* fueron mayores con estos dos últimos sistemas comerciales.

Por último, los sistemas BBL Crystal y Phoenix fueron informados cada uno por dos únicos centros, con lo que no se pueden sacar conclusiones fiables.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 207 centros que realizaron una identificación mínima del género *Flavobacterium* y de las especies anteriormente incluidas en dicho género. Seis de estos centros no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 201 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 176 (87,6%), empleándose como método único en el 67,6% de los casos. Fueron 49 (24,4%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 16 (8,0%) lo hicieron de forma única. Se realizó E-test® en 27 laboratorios (13,5%), la mayoría empleados junto con otro método de sensibilidad. Un único participante (0,5%) no especificó el método empleado (tabla 5).

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
CMI por microdilución	136	67,6
CMI + disco-placa	21	10,4
Disco-placa	16	8,0
CMI + E-test®	12	6,0
CMI + disco-placa + E-test®	7	3,5
Disco-placa + E-test®	5	2,5
E-test®	3	1,5
No especificado	1	0,5
Total	201	100,0

Sobre un total de 176 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (52,9%) y Vitek 2 (34,7%), seguidos del Wider (8,5%). Los datos se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Microscan	93	52,9
Vitek 2	61	34,7
Wider	15	8,5
Sensititre	4	2,3
Preparación propia	1	0,5
No específica	2	1,1
Total	176	100,0

En la tabla 7, se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia, obtenidos mediante microdilución (Microscan) y E-test®. 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. El laboratorio de referencia usó los criterios del CLSI correspondientes a la familia *Pseudomonas* para la interpretación de los resultados.

Tabla 7. Sensibilidad antibiótica de la cepa.

Antibiótico	CMI ^a (µg/mL)	Interpretación ^b
Piperacilina-tazobactam	6	S
Ceftazidima	>32	R
Cefepima	0,75	S
Aztreonam	4	S
Imipenem	8	R
Meropenem	>32	R
Gentamicina	>8	R
Tobramicina	>8	R
Amikacina	>32	R
Ciprofloxacino	1	S
Levofloxacino	≤1	S
Cotrimoxazol	≤2/38	S
Minociclina	≤4	S

^aCMI: concentración mínima inhibitoria.

^bS: sensible; R: resistente.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia una lista de los antibióticos que consideraran que deberían ser incluidos en el estudio de sensibilidad de esta bacteria, sirviendo así como una aproximación o guía general. Desde el Programa de Control de Calidad, se considera que la adecuación de los antibióticos seleccionados por cada centro puede considerarse como un criterio añadido de la calidad que ofrece. Como en otras ocasiones, estos profesionales basaron su selección en los siguientes criterios: a) tratarse de opciones terapéuticas de primera elección, b) constituir alternativas en ciertas situaciones clínicas, c) servir como criterio adicional para la identificación precisa de la especie bacteriana, marcador fenotípico, etc. y d) para conocer la epidemiología de la resistencia en un determinado ámbito geográfico. Las distintas respuestas de los expertos se resumen en la tabla 8.

Tabla 8. Antibiograma ideal según tres profesionales.

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Imipenem	Imipenem	Imipenem
Meropenem	Meropenem	Meropenem
Piperacilina-tazobactam	Piperacilina-tazobactam	Piperacilina-tazobactam
Ceftazidima	Ceftazidima	Ceftazidima
Cefepima	Cefepima	Cefepima
Aztreonam	Aztreonam	Aztreonam
Gentamicina	Gentamicina	Gentamicina
Tobramicina	Tobramicina	Tobramicina
Amikacina		Amikacina
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Ciprofloxacino
	Levofloxacino	Levofloxacino
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol

Los antibióticos que fueron informados por un mayor número de participantes se ajustan bastante a las necesidades terapéuticas y al "patrón ideal" que se desprende de la opinión de dos o más de los expertos: imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam, ceftazidima, cefepima, aztreonam, gentamicina, tobramicina, amikacina, ciprofloxacino, levofloxacino y cotrimoxazol.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

De nuevo, se solicitó a los participantes que informasen que criterios de puntos de corte utilizaron para la interpretación del antibiograma. De los 201 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Flavobacterium* o relacionado, 150 (74,6%) utilizaron los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), otros 39 (19,4%) los del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) y 10 (5,0%) según la bibliografía. Hubo un participante que comentó que no existían puntos de corte definidos para este género bacteriano, mientras que otro laboratorio no aportó información al respecto (tabla 9).

Tabla 9. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Marca	Número	%
CLSI	150	74,6
EUCAST	39	19,4
Bibliografía	10	5,0
No puntos de corte definidos	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	201	100,0

En la tabla 10 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue igual o superior a 35. En total, se han recibido resultados correspondientes a 41 antibióticos diferentes.

Tabla 10. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Piperacilina-tazobactam	153	105 (68,6)	35 (22,9)	13 (8,5)	–
Cefotaxima	49	3 (6,1)	1 (2,0)	45 (91,9)	–
Ceftazidima	145	8 (5,5)	32 (22,0)	105 (72,5)	–
Cefepima	169	169 (100,0)	–	–	–
Aztreonam	77	64 (83,1)	4 (5,2)	9 (11,7)	–
Imipenem	150	70 (46,7)	44 (29,3)	35 (23,3)	1 (0,7)
Meropenem	106	12 (11,3)	24 (22,7)	70 (66,0)	–
Gentamicina	141	8 (5,7)	4 (2,8)	129 (91,5)	–
Tobramicina	102	1 (1,0)	–	100 (98,0)	1 (1,0)
Amikacina	122	6 (4,9)	3 (2,5)	113 (92,6)	–
Ciprofloxacino	157	123 (78,3)	26 (16,6)	8 (5,1)	–
Levofloxacino	97	96 (99,0)	–	1 (1,0)	–
Cotrimoxazol	149	147 (98,7)	–	2 (1,3)	–
Minociclina	50	49 (98,0)	–	–	1 (2,0)
Colistina	64	1 (1,5)	–	63 (98,5)	–

^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 todos los antibióticos, a excepción del imipenem, en el que se observó una discrepancia entre los diferentes centros. Ello es debido a que la cepa presentaba una CMI entre 4 y 8 µg/mL. Para una CMI de 4 µg/mL, la cepa sería sensible siguiendo los criterios de EUCAST para *Pseudomonas* pero intermedio según CLSI de *Pseudomonas* y Sensible por CLSI de Otras No-Enterobacterias; mientras que, para una CMI de 8 µg/mL la cepa tendría una sensibilidad intermedia según EUCAST de *Pseudomonas* pero resistente según CLSI de *Pseudomonas* e Intermedio por CLSI de Otras No-Enterobacterias.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, se obtuvieron los siguientes datos: 208 laboratorios (92,4%) afirmaron no haberlo utilizado, 7 centros (3,1%) declararon haberlo requerido y 10 centros (4,5%) lo utilizaron parcialmente.

COMENTARIOS

Los comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas (18), principalmente el tratamiento con cefepima o piperacilina-tazobactam. Doce participantes comentaron que *E. brevis* presentaba una meta-β-lactamasa (MBL) cromosómica y que dicha especie presentaba una resistencia intrínseca a las carbapenemas y a los aminoglucósidos.

Ocho participantes comentaron que no existían criterios interpretativos de sensibilidad para esta especie, con lo que habían utilizado los criterios para el género *Pseudomonas*.

Tres participantes comentaron que la cepa era pigmentada. Otros tres participantes expresaban sus dudas entre las identificaciones de *E. brevis* y *C. indologenes*.

Dos laboratorios comentaron que *E. brevis* es poco virulento y que podría ser un colonizante, con lo que habría que valorar la significación clínica. Otros dos laboratorios encontraron discrepancias con el valor de la CMI a la piperacilina-tazobactam obtenido con el Vitek (resistente) y E-test® (sensible).