

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-1/15

### INTRODUCCIÓN

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Pseudomonas aeruginosa*. La identificación de referencia se realizó mediante una galería comercial de pruebas bioquímicas (Vitek 2®, bioMérieux), y fue confirmada mediante secuenciación del ARN ribosómico 16S. Además, esta cepa tenía la particularidad de ser resistente a múltiples antibióticos. La historia clínica correspondía a la de una paciente de 44 años de edad, sin antecedentes patológicos de interés, que fue ingresada en la Unidad de Cuidados Intensivos por un cuadro de politraumatismo grave por accidente de tráfico. Dado el estado de la paciente, se requirió sedación, intubación y ventilación mecánica y se pautó antibioterapia empírica, siguiendo los protocolos establecidos en dicha unidad para tales casos. Sin embargo, al octavo día de su ingreso, se produjo un aumento de las secreciones bronquiales, que adquirieron un aspecto más purulento, produciéndose al décimo día un empeoramiento franco del estado general de la paciente con caída de parámetros respiratorios y fiebre de 39,5°C. La imagen radiológica mostró un infiltrado en lóbulo superior izquierdo compatible con neumonía nosocomial. Se tomaron muestras de broncoaspirado y hemocultivos que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para 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. El objetivo principal de este control fue, además de la identificación, evidenciar la capacidad de los participantes para detectar el patrón de sensibilidad de la cepa, sensible únicamente a algunos aminoglucósidos y a la colistina.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 237 centros inscritos en Bacteriología, de los que 230 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables, lo que supuso un porcentaje de participación del 97,1%, superior al del último control (92,9%). El Programa de Control de Calidad SEIMC sólo consideró válida la identificación correcta de género y especie (*P. aeruginosa*). Como se puede observar en la tabla 1, la inmensa mayoría de los participantes (98,3%) identificaron correctamente el género y la especie y, tres de los cuatro resultados discrepantes, se trataron de errores “pre o postanalíticos”, ya que las identificaciones eran compatibles con las de otro control del área de Bacteriología Mensual que se remitió al mismo tiempo.

**Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.**

Identificación	Número	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	226	98,3
<i>Bacteroides ovatus</i>	2	0,9
<i>Prevotella oralis</i>	1	0,4
<i>Pseudomonas fluorescens/putida</i>	1	0,4
Total	230	100,0

En este control, el 85,7% de los centros (197), emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa. De ellos, 158 (68,7%) las usaron como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por 48 participantes (20,9%), siendo empleada como único método diagnóstico 11,8%. Las pruebas manuales, fueron usadas por 24 laboratorios (10,4%), en 3 de ellos (1,3%) de forma única. Por último, sólo 1 laboratorio (0,4%) realizó un estudio de secuenciación para su identificación. Todos estos datos se detallan en la tabla 2.

**Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.**

Método	Número	%
Comercial	158	68,7
Espectrometría de masas	27	11,8
Comercial + espectrometría de masas	19	8,3
Manual + comercial	17	7,4
Manual	3	1,3
Manual + comercial + espectrometría de masas	2	0,9
Comercial + PCR	1	0,4
Manual + aglutinación	1	0,4
Manual + secuenciación	1	0,4
No informa	1	0,4
Total	230	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se muestran en la tabla 3, se han excluido los tres centros que identificaron una bacteria anaerobia por tratarse de errores no relacionados con la fase analítica (uno de ellos empleó el sistema Rapid Ana Sytem (Remel), identificando *P. oralis*, y los dos restantes informaron *B. ovatus* mediante Vitek 2® y Maldi-TOF. La cepa de *B. ovatus* fue la bacteria objeto del control mensual de abril de 2015 (BX-abril-15), por lo que se consideraron respuestas cruzadas con este control).

**Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MicroScan® (Beckman Coulter)	102	41,7	99,0
Vitek 2® (bioMérieux)	72	29,8	100,0
Maldi-TOF (Bruker / Vitek® MS)	47	19,6	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	10	4,1	100,0
Galerías API® (bioMérieux)			
API 20 NE	5	2,0	100,0
API 20 E	1	0,4	100,0
Phoenix™ (Becton Dickinson)	5	2,0	100,0
Total	242	100,0	99,6

En general se obtuvieron buenos resultados con todos los equipos empleados. El centro que informó *P. fluorescens/putida* empleó el equipo MicroScan® (Beckman Coulter).

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

### GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 227 centros que realizaron una identificación mínima de género *Pseudomonas*, de los cuales todos ellos realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 227 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 213 (93,8%), empleándose como método único en el 73,1% de los casos. Fueron 48 (21,2%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 12 (5,3%) lo hicieron de forma única. Se realizó E-test® en 24 laboratorios (10,6%), en todos los casos empleados junto con otro método de sensibilidad. Un único participante (0,4%) no especificó el método empleado. Todos estos datos se detallan en la tabla 5.

**Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
CMI por microdilución	166	73,1
CMI + disco-placa	24	10,6
CMI + E-test®	12	5,3
Disco-placa	12	5,3
CMI + disco-placa + E-test®	11	4,9
Disco-placa + E-test®	1	0,4
No especificado	1	0,4
Total	227	100,0

Sobre un total de 213 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados MicroScan® (52,6%) y Vitek 2® (37,6%), seguidos de Wider® (6,1%). Estos datos se resumen en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.**

Marca	Número	%
MicroScan® (Beckman Coulter)	112	52,6
Vitek 2® (bioMérieux)	80	37,6
Wider® (Soria Melguizo)	13	6,1
Phoenix™ (Becton Dickinson)	5	2,3
Sensititre™ (Thermo Scientific)	2	0,9
No informa	1	0,5
Total	213	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia fueron obtenidos mediante difusión en disco-placa y microdilución en caldo (Sensititre™) y se muestran en la tabla 7. 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 empleó los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes a la familia *Pseudomonas* para la interpretación de los resultados. Asimismo, este laboratorio descartó, mediante PCR, los siguientes tipos de betalactamasas:

- Beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) tipo 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.

**Tabla 7. Sensibilidad antibiótica de referencia.**

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

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

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

Se solicitó a los participantes que informasen qué criterios de puntos de corte utilizaron para la interpretación del antibiograma. De los 227 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Pseudomonas*, 134 (59,0%) utilizaron los criterios del CLSI, otros 89 (39,2%) los del EUCAST, otros 2 (0,9%) según la bibliografía, mientras que los 2 restantes (0,9%) no aportaron información al respecto (tabla 9).

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

Criterio	Número	%
----------	--------	---

CLSI	134	59,0
EUCAST	89	39,2
Bibliografía	2	0,9
No informan	2	0,9
Total	227	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 30. En total, se han recibido resultados correspondientes a 31 antibióticos diferentes.

**Tabla 10. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Número	Interpretación <sup>a</sup>		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Ampicilina-sulbactam	35	0	0	35 (100,0)
Piperacilina	39	0	1 (2,6)	38 (97,4)
Piperacilina-tazobactam	200	2 (1,0)	2 (1,0)	196 (98,0)
Aztreonam	160	8 (5,0)	122 (76,2)	30 (18,8)
Ceftazidima	222	6 (2,7)	38 (17,1)	178 (80,2)
Cefepima	194	5 (2,6)	79 (40,7)	110 (56,7)
Imipenem	214	1 (0,5)	0	213 (99,5)
Meropenem	183	0	0	183 (100,0)
Ciprofloxacino	216	0	0	216 (100,0)
Levofloxacino	98	0	0	98 (100,0)
Gentamicina	191	105 (55,0)	48 (25,1)	38 (19,9)
Tobramicina	193	190 (98,5)	1 (0,5)	2 (1,0)
Amikacina	180	142 (78,9)	34 (18,9)	4 (2,2)
Fosfomicina	43	3 (7,0)	0	40 (93,0)
Colistina	195	185 (94,9)	6 (3,1)	4 (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, bastantes laboratorios obtuvieron una CMI entre 4 y 8

$\mu\text{g/mL}$ . La CMI de 4  $\mu\text{g/mL}$  a la gentamicina sería sensible para ambos comités, sin embargo, con la CMI de 8  $\mu\text{g/mL}$  la cepa presentaría una sensibilidad intermedia según el CLSI pero ya sería resistente por EUCAST. De modo similar, bastantes centros obtuvieron una CMI entre 8 y 16  $\mu\text{g/mL}$  a la amikacina, que sería sensible según CLSI, pero para EUCAST una CMI de 16  $\mu\text{g/mL}$  sería intermedia.

## DETECCIÓN DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA

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 beta-lactamasa cromosómica AmpC natural de esta especie junto con alteraciones en la permeabilidad o de bombas de expulsión. De los 227 laboratorios con la identificación mínima de género *Pseudomonas*, 130 realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa. El conjunto de los comentarios efectuados se han resumido en la tabla 11. Los comentarios más frecuentes fueron que la cepa era multiresistente (58 laboratorios) o resistente a las carbapenemas (28).

**Tabla 11. Resultados acerca del fenotipo de resistencia de la cepa.**

<b>Característica especial</b>	<b>Número</b>
Cepa multiresistente	58
Cepa resistente a las carbapenemas	28
Cepa no productora de carbapenemasa	24
Cepa productora de carbapenemasa	22
Impermeabilidad (pérdida de porinas)	9
Hiperproducción (desrepresión) de AmpC	5
Probable / posible cepa productora de carbapenemasa	4
Hiperproducción AmpC + pérdida de porinas	2
Múltiples mecanismos de resistencia	1
Sin información específica	97

## 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: 223 laboratorios (97,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 6 centros (2,6%) declararon haberlo requerido y 1 centro (0,4%) lo utilizó parcialmente.

## COMENTARIOS

Además de los comentarios expuestos anteriormente, otros comentarios mayoritarios fueron acerca de las recomendaciones terapéuticas (16 centros), principalmente la asociación de tobramicina endovenosa y colistina inhalada. Algunos participantes (n=11) recomendaron el aislamiento del paciente, junto con otras medidas de control epidemiológico como el estudio de portadores.

Madrid, 17 de noviembre de 2015

**El Coordinador del Programa de Control de Calidad SEIMC**

**Nota:** La asignación del valor de referencia ha sido subcontratada a laboratorios externos.

**Nota:** Si los datos anteriores son incorrectos, o considerasen oportuno apelar los resultados rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa