

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B124

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 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 un paciente de 53 años que era intervenido por un traumatismo abdominal grave a consecuencia de un accidente, siendo ingresado posteriormente en la Unidad de Cuidados Intensivos. El paciente requirió de intubación y ventilación mecánica. A los cuatro días de la intervención el paciente, que se encontraba bajo sedación y con tratamiento antibiótico empírico, sufrió un brusco empeoramiento de su estado general con fiebre de 39,1°C y alteración de los parámetros respiratorios; mostraba mal estado general, palidez cutáneo-mucosa e hipotensión (TA de 100/58 mmHg). En abdomen, en el área de alrededor de la herida, presentaba una zona eritematosa y edematosa con aumento del calor local y presencia de exudado purulento. Se realizó limpieza de la herida quirúrgica y se tomaron muestras del exudado de la lesión y también dos parejas de hemocultivos, que fueron remitidas 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.

B124

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución en caldo 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 de los Enterobacterales.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 14.0-2024)	CLSI (M100S34-2024)
Amoxicilina-clavulanato	>32	Resistente	Resistente
Ampicilina	>8	Resistente	Resistente
Aztreonam	>16	Resistente	Resistente
Cefepima	>16	Resistente	Resistente
Cefotaxima	>32	Resistente	Resistente
Cefuroxima	>16	Resistente	Resistente
Ciprofloxacino	>1	Resistente	Resistente
Cotrimoxazol	>4/76	Resistente	Resistente
Ertapenem	>1	Resistente	Resistente
Gentamicina	>8	Resistente	Resistente
Imipenem	≤1	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Meropenem	4	Sensible con exposición incrementada	Resistente
Piperacilina-tazobactam	64	Resistente	Resistente
Tobramicina	>8	Resistente	Resistente

En base a los dos laboratorios utilizados para el valor asignado, la cepa de *K. pneumoniae* remitida presentaba como característica especial el ser productora de una β-lactamasa de espectro extendido (BLEE) con afectación de las carbapenemas debido a una pérdida de porinas (alteración de la permeabilidad).

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 230 centros inscritos en Bacteriología, de los que 219 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 95,2%, similar al del último control (94,5%).

## 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, todos los centros participantes excepto dos (217, el 99,0%) identificaron correctamente la especie.

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

Identificación	Número	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	217	99,0
Género <i>Klebsiella</i>	1	0,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,5
Total	219	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 61,6% de los centros (135) emplearon la espectrometría de masas, 110 de ellos (50,2%) como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 105 centros (48,0%), y como único método diagnóstico por el 31,9% de los mismos. Respecto a las pruebas manuales, fueron informadas únicamente por 8 laboratorios (3,7%), en uno de ellos (0,5%) de forma única. Por último, hubo un centro (0,5%) que recurrió a un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 3.

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

Método	Número	%
Espectrometría de masas	110	50,2
Comercial	70	31,9
Comercial + espectrometría de masas	20	9,1
Manual + comercial	5	2,3
Comercial + inmunocromatografía	4	1,8

Comercial + inmunocromatografía + PCR	3	1,4
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	2	0,9
Manual + comercial + espectrometría de masas	2	0,9
Comercial + espectrometría de masas + aglutinación	1	0,5
Manual	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
Total	219	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (88 centros), seguido del MicroScan de Beckman Coulter (46 centros), del MALDI-TOF VITEK® MS (41 centros) y de las tarjetas VITEK® 2, ambos de bioMérieux (40 centros), obteniendo todos ellos un excelente índice de aciertos. Respecto a los dos resultados discrepantes, la identificación de *Klebsiella oxytoca* se obtuvo mediante el MALDI-TOF VITEK® MS, mientras que el centro que informó género *Klebsiella* empleó el MALDI-TOF de Bruker.

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	88	40,6	98,8
MicroScan (Beckman Coulter)	46	21,2	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	41	18,9	97,6
VITEK® 2 (bioMérieux)	40	18,5	100,0
BD Phoenix™	1	0,4	100,0
RapID™ ONE (Remel, Thermo Scientific)	1	0,4	100,0
Total	217	100,0	99,1

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a todos los centros que realizaron la identificación mínima de género *Klebsiella* (n=219). De ellos, hubo 2 que no introdujeron ningún antibiótico en la aplicación, por 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 214 (98,6%), empleándose como método único en el 63,6% de las ocasiones. Hubo 61 laboratorios (28,1%) que utilizaron las tiras de gradiente de concentración, en todos los

casos combinadas con otro método. Por último, la técnica de difusión en disco-placa fue empleada por 46 laboratorios (21,2%), de los que 3 (1,4%) lo hicieron de forma única. Todos estos datos se muestran en la tabla 5.

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

Método	Número	%
Microdilución	138	63,6
Microdilución + tira de gradiente de concentración	33	15,2
Microdilución + disco-placa + tira de gradiente de concentración	28	12,9
Microdilución + disco-placa	15	6,9
Disco-placa	3	1,4
Total	217	100,0

El análisis de un total de 212 respuestas mostró que los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron los paneles MicroScan de Beckman (52,8%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (42,5%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 6.

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

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	112	52,8
VITEK® 2 (bioMérieux)	90	42,5
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	7	3,3
Sensititre™ (Thermo Fisher)	2	0,9
Etest® (bioMérieux)	1	0,5
Total	212	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.

Así, de los 217 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Klebsiella*, hubo 210 centros (96,8%) que utilizaron los criterios del EUCAST, mientras que 6 (2,8%) emplearon los criterios del CLSI y el laboratorio restante (0,4%) utilizó criterios de ambos comités. Estos datos se muestran en la tabla 7.

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

Marca	Número	%
EUCAST	210	96,8
CLSI	6	2,8
CLSI + EUCAST	1	0,4
Total	217	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 46 antibióticos diferentes, de los cuales 25 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 <sup>a</sup>				
		Sensible/ SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	181	88 (48,6)	18 (9,9)	73 (40,4)	2 (1,1)	0
Amoxicilina-clavulanato	199	0	0	199 (100,0)	0	0
Ampicilina	153	1 (0,6)	0	152 (99,4)	0	0
Aztreonam	108	0	0	108 (100,0)	0	0
Cefepima	171	0	0	171 (100,0)	0	0
Cefotaxima	134	0	0	134(100,0)	0	0
Cefoxitina	30	4 (13,3)	2 (6,7)	20 (66,7)	4 (13,3)	0
Ceftazidima	153	1 (0,6)	0	152 (99,4)	0	0
Ceftazidima-avibactam	137	136 (99,3)	0	1 (0,7)	0	0
Ceftolozano-tazobactam	97	61 (62,9)	0	36 (37,1)	0	0
Ceftriaxona	71	0	0	71 (100,0)	0	0
Cefuroxima	128	0	0	128 (100,0)	0	0

Ciprofloxacino	196	0	0	196 (100,0)	0	0
Colistina	96	94 (98,0)	0	1 (1,0)	1 (1,0)	0
Cotrimoxazol	175	0	0	175 (100,0)	0	0
Ertapenem	186	0	0	186 (100,0)	0	0
Fosfomicina	76	63 (82,9)	0	7 (9,3)	3 (3,9)	3 (3,9)
Gentamicina	187	4 (2,1)	0	183 (97,9)	0	0
Imipenem	160	135 (84,4)	21 (13,1)	3 (1,9)	1 (0,6)	0
Levofloxacino	85	0	0	85 (100,0)	0	0
Meropenem	200	17 (8,5)	163 (81,5)	20 (10,0)	0	0
Meropenem-varbobactam	31	31 (100,0)	0	0	0	0
Piperacilina-tazobactam	181	10 (5,5)	5 (2,8)	165 (91,2)	1 (0,5)	0
Tigeciclina	70	54 (77,2)	3 (4,3)	10 (14,3)	2 (2,8)	1 (1,4)
Tobramicina	117	1 (0,8)	0	116 (99,2)	0	0

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico. Abreviaturas: SDE (Sensible dosis estándar, SEI (Sensible con exposición incrementada), SDD (Sensible dosis dependiente).

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado del estudio de sensibilidad para todos los antibióticos, con algunos errores anecdóticos.

## CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Como ya se ha mencionado, la cepa de *K. pneumoniae* remitida era productora de BLEE, con afectación de las carbapenemas por una posible pérdida de porinas (alteración en la permeabilidad). De los 219 participantes con la identificación mínima de género *Klebsiella*, 178 (81,3%) realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa. El conjunto de los comentarios efectuados se ha resumido en la tabla 9.

Los comentarios más frecuentes fueron que la cepa era productora de BLEE (76 centros, el 34,7%), que era productora de BLEE junto con una pérdida de porinas (41 centros, el 18,7%), y que era una cepa productora de BLEE y resistente a las carbapenemas (24 centros, el 11,0%).

**Tabla 9. Detección de la característica fenotípica especial.**

Marca	Número	%
Cepa productora de BLEE	76	34,7
Cepa productora de BLEE + pérdida de porinas	41	18,7
Cepa productora de BLEE + resistente a las carbapenemas	24	11,0

Cepa multirresistente	5	2,3
Cepa productora de BLEE + AmpC	5	2,3
Cepa productora de BLEE + carbapenemasa	4	1,8
Cepa productora de BLEE + multirresistente	4	1,8
Cepa productora de BLEE + OXA-1	4	1,8
Cepa resistente a las carbapenemas	4	1,8
Cepa productora de BLEE + SHV	3	1,4
Cepa productora de AmpC + pérdida de porinas	2	0,9
Cepa productora de BLEE + AmpC + pérdida de porinas	2	0,9
Cepa productora de BLEE + KPC	2	0,9
Cepa productora de carbapenemasa	1	0,5
Cepa productora de OXA-48 + KPC	1	0,5
No informa	41	18,7
Total	219	100,0

## UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

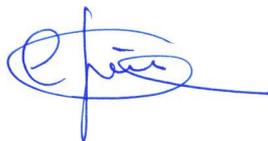
Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, de los 219 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 208 (95,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 5 (2,3%) declararon el haberlo requerido y los 6 restantes (2,7%) lo usaron parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, 88 centros comentaron que la detección de carbapenemasas mediante inmunocromatografía o con un método molecular había sido negativa.

Hubo 3 centros que realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente tratamiento con meropenem a dosificación incrementada. Otros 3 centros señalaron que observaron sinergia entre la combinación de ceftazidima-avibactam con aztreonam. Por último, dos centros recomendaron el aislamiento del paciente.

Madrid, 4 de junio de 2024



  
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 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.