

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-3/15

En el Análisis de Resultados del presente control se analizan 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 (externos) que actuaron de referencia para el Programa CCS. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de la muestra a través de ensayos realizados tras la preparación de los liófilos y tras su envío, asegurando así la validez de la misma.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, quienes emplearon métodos con sensibilidad y especificidad adecuadas para cada determinación. Además, la identificación fue refrendada mediante estudio de secuenciación. Estos laboratorios expertos colaboran con el Programa CCS mediante la firma de acuerdos.

Este Análisis de Resultados ha sido elaborado por especialistas en Microbiología y Parasitología.

La confidencialidad de todos los resultados está asegurada a través de la firma de Compromisos de Confidencialidad por parte de todo el personal del Programa CCS y de sus colaboradores.

INTRODUCCIÓN

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa. La historia clínica correspondía a la de un paciente varón de 65 años de edad que acudía al servicio de Urgencias de su hospital de área por presentar, desde hacía unas 24 horas, un cuadro de malestar general, fiebre alta (39°C), dolor abdominal, náuseas y vómitos. Como antecedentes patológicos de interés, refería la presencia de cálculos en vesícula biliar. A la exploración, el paciente presentaba MEG, dolor a la palpación abdominal en cuadrante superior derecho y ligero tinte icterico de piel y mucosas. El paciente ingresó en el hospital con sospecha de colangitis aguda y se tomaron hemocultivos que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico. A la 18 horas de incubación se objetivó crecimiento del microorganismo 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 los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que se estimasen oportunos.

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Enterococcus cecorum* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF, Bruker) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos por microdilución (Microscan®) 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. Se emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes al género *Enterococcus* para la interpretación de los resultados.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		CLSI	EUCAST
Ampicilina	≤1	S	S
Penicilina	0,25	S	NI
Ciprofloxacino	>2	R	R
Levofloxacino	>4	R	R
Vancomicina	≤1	S	S
Teicoplanina	≤1	S	S
Linezolid	≤1	S	S
Daptomicina	≤0,5	S	NI
Quinupristina-dalfopristina	≤0,5	S	S
Gentamicina 500	≤500	S	S
Estreptomina 1000	≤1000	S	S
Tetraciclina	2	S	NI
Eritromicina	>4	R	NI

^aS: sensible, R: resistente, NI: no interpretada

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 237 centros inscritos en Bacteriología, de los que 213 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 89,9%, similar al del último control (92,0%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*E. cecorum*), y como respuesta aceptable la de cualquier especie perteneciente al género *Enterococcus*. Como se puede observar en la tabla 2, la mayoría de los centros (el 78,8%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control, mientras que el 6,5% informaron género *Enterococcus*, y el 1,4% informaron otra especie perteneciente a dicho género. Así, un 86,8% de los participantes encuadraron correctamente la cepa dentro del género *Enterococcus*.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Enterococcus cecorum</i>	168	78,8
Género <i>Enterococcus</i>	14	6,5
<i>Aerococcus viridans</i>	4	1,8
<i>Streptococcus bovis</i>	4	1,8
<i>Streptococcus</i> grupo <i>mitis</i>	3	1,4
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	2	0,9
Estreptococo grupo <i>viridans</i>	2	0,9
<i>Streptococcus</i> grupo D	2	0,9
<i>Bacillus circulans</i>	1	0,5
Bacilo grampositivo diferomorfo	1	0,5
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	1	0,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0,5
Género <i>Lactobacillus</i>	1	0,5
Género <i>Listeria</i>	1	0,5
Género <i>Streptococcus</i>	1	0,5
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	1	0,5
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	1	0,5
<i>Streptococcus anginosus</i>	1	0,5
<i>Streptococcus gallolyticus</i> ssp. <i>pasteurianus</i>	1	0,5
<i>Streptococcus intermedius</i>	1	0,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	0,5
<i>Streptococcus sanguis</i>	1	0,5
Total	213	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 69,0% de los centros (147), emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 86 (40,4%) las usaron como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por el 43,2% de los participantes, siendo empleada como único método diagnóstico en el 25,3% de las ocasiones. Las pruebas manuales fueron usadas por 32 laboratorios (15,0%), en 8 de ellos (3,8%) de forma única. Por último, 6 laboratorios (2,8%) realizaron aglutinación frente a los antígenos de Lancefield, y 5 (2,3%) identificación mediante estudio de secuenciación de la cepa. Hubo 2 participantes (0,9%) que no aportaron información de esta premisa. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	86	40,4
Espectrometría de masas	54	25,3
Comercial + espectrometría de masas	30	14,1
Manual + comercial	17	8,0
Manual	8	3,8
Comercial + aglutinación	5	2,4
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	4	1,8
Manual + comercial + espectrometría de masas	4	1,8
Manual + aglutinación	1	0,5
Manual + comercial + aglutinación	1	0,5
Manual + secuenciación	1	0,5
No informa	2	0,9
Total	213	100,0

Los sistemas comerciales utilizados en la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el Maldi-Tof (92 centros, agrupando Bruker y VITEK® MS), seguido del VITEK® 2 (83 centros) y de la galería API® 20 Strep (17 centros).

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
Maldi-Tof (Bruker y VITEK® MS)	92	39,7	97,8
VITEK® 2	83	35,8	96,4
Galerías API®			
API® 20 Strep	17	7,3	35,3
rapid ID 32 STREP™	10	4,3	90,0
API® Coryne	2	0,9	0,0

API® 20 A	1	0,4	0,0
API® 20 NE	1	0,4	0,0
API® no especificado	1	0,4	0,0
MicroScan	12	5,2	41,7
Phoenix™	6	2,6	0,0
BBL™ Crystal™	3	1,3	0,0
Wider®	1	0,4	0,0
No especifica el sistema	3	1,3	100,0
Total	232	100,0	81,9

La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Los mejores resultados se obtuvieron con el MALDI-TOF (97,8% de aciertos, agrupando Bruker y VITEK® MS) y con el equipo VITEK® 2 (96,4%), seguidos de la galería rapid ID 32 STREP™ (90,0%). El resto de los sistemas obtuvieron un bajo porcentaje de identificaciones correctas de género o especie.

Tabla 5. Resultados de identificación de *E. cecorum* con los sistemas mayoritarios.

Sistema	Número usuarios	<i>E. cecorum</i>	Género <i>Enterococcus</i>	Otras especies de <i>Enterococcus</i>	Alguna especie de los géneros <i>Streptococcus</i> o <i>Aerococcus</i>	Otras especies
Maldi-Tof	92	90 (97,8)	1 (1,1)	1 (1,1)	0 (0,0)	0 (0,0)
VITEK® 2	83	80 (96,4)	1 (1,2)	0 (0,0)	1 (1,2)	1 (1,2)
API® 20 Strep	17	6 (35,3)	2 (11,8)	0 (0,0)	9 (52,9)	0 (0,0)
Microscan	12	5 (41,7)	4 (33,3)	2 (16,7)	0 (0,0)	1 (8,3)
rapid ID 32 STREP™	10	9 (90,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (10,0)	0 (0,0)

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 185 centros que realizaron una identificación mínima de género *Enterococcus*. De ellos, 7 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 178 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 109 (61,2%), empleándose como método único en el 46,6% de los casos. Hubo 74 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (41,6%), de los que 42 (23,6%) lo hicieron de forma única. Fueron 39 (21,9%) los centros que emplearon las tiras de gradiente de concentración, de los que el 8,4% las emplearon como único método de sensibilidad (tabla 6).

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	83	46,6
Disco-placa	42	23,6
Tiras de gradiente de concentración	15	8,4
Microdilución + disco-placa	14	7,9
Disco-placa + tiras gradiente concentración	12	6,7
Microdilución + disco-placa + tiras gradiente concentración	6	3,4
Microdilución + tiras gradiente concentración	6	3,4
Total	178	100,0

Sobre un total de 137 respuestas, los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante los métodos de microdilución y tiras de gradiente de concentración fueron los sistemas automatizados MicroScan (47,5%) y Vitek 2 (16,1%). Hay que matizar que en el estudio de sensibilidad por tiras de concentración, las marcas bioMérieux, Liofilchem y Oxoid no estaban disponibles en el desplegable de respuesta, por lo que los centros no pudieron aportar esta información en la hoja de respuesta, aunque algunos de ellos especificaron en sus comentarios la marca empleada. Todos estos valores se han creado para los sucesivos controles, con lo que estarán disponibles a partir del B-1/16. El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas para la obtención de la CMI.

Marca	Número	%
MicroScan® (Beckman Coulter)	65	47,5
VITEK® 2 (bioMérieux)	22	16,1
Sensititre™ (Thermo Scientific)	6	4,4
Wider® (Soria Melguizo)	6	4,4
E-test® (bioMérieux)	5	3,6
Phoenix™ (Becton Dickinson)	3	2,2
Oxoid (tiras)	1	0,7
Preparación propia	1	0,7
No informan	28	20,4
Total	137	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 inhibición o CMI) y, en el caso de que quisieran realizar una lectura interpretada de los resultados para alguno de los antibióticos, que ésta la consignaran en el apartado de comentarios y no en la tabla de respuesta. Además, tenían que informar qué criterios de puntos de corte habían utilizado para la interpretación de su antibiograma.

Así, de los 178 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Enterococcus*, 109 (61,2%) utilizaron los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), otros 66 (37,1%) los del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), mientras que los 3 restantes (1,7%) según la bibliografía. Estos datos se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Criterio	Número	%
CLSI	109	61,2
EUCAST	66	37,1
Bibliografía	3	1,7
Total	178	100,0

En la tabla 9 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue igual o superior a 30. En total, se han recibido resultados correspondientes a 42 antibióticos diferentes.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Categorización ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Ampicilina	159	149 (93,7)	2 (1,3)	8 (5,0)	0
Ciprofloxacino	72	7 (9,7)	4 (5,6)	61 (84,7)	0
Clindamicina	44	3 (6,8)	0	41 (93,2)	0
Daptomicina	45	44 (97,8)	0	0	1 (2,2)
Eritromicina	63	4 (6,3)	2 (3,2)	57 (90,5)	0
Estreptomicina ^b	51	50 (98,0)	0	1 (2,0)	0
Gentamicina ^b	66	64 (97,0)	0	1 (1,5)	1 (1,5)
Levofloxacino	81	5 (6,2)	0	76 (93,8)	0
Linezolida	104	104 (100,0)	0	0	0
Penicilina	63	52 (82,6)	4 (6,3)	6 (9,5)	1 (1,6)
Teicoplanina	84	84 (100,0)	0	0	0
Tetraciclina	30	11 (36,7)	2 (6,6)	17 (56,7)	0
Vancomicina	167	164 (98,2)	1 (0,6)	2 (1,2)	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

^bDe alta carga (sinergia).

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 todos los casos los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo resistente el valor asignado) fueron considerados como no aceptables por parte del Programa CCS.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado para todos los antibióticos, a excepción de la tetraciclina, en la que se observó discrepancia entre los diferentes centros, si bien únicamente este antibiótico fue informado por 30 participantes.

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 213 participantes que enviaron hoja de respuesta se obtuvieron los siguientes datos: 188 laboratorios (88,3%) afirmaron no haberlo utilizado, 11 centros (5,2%) declararon haberlo requerido y 14 centros (6,5%) lo utilizaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Algunos comentarios mayoritarios fueron acerca de las recomendaciones terapéuticas (6 centros), principalmente la asociación de ampicilina más gentamicina, tres de ellos manifestando explícitamente que la cepa presentaba sinergismo entre ambos antimicrobianos.

Cuatro centros comentaron que esta especie no se encontraba en la base de datos del MicroScan y de algunas galerías API, con lo que era difícil su identificación. Además, tres laboratorios señalaron que esta cepa crecía lentamente y otros tres que se trataba de una especie rara en humanos.

Por último, dos centros comentaron la sensibilidad a las cefalosporinas de 3ª generación que presentaba *E. cecorum* a diferencia de otras especies de enterococos que son resistentes.

Madrid, 4 de julio de 2016

El Coordinador del Programa de Control de Calidad SEIMC

Nota: si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.