

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-3/16

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 líofilo 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 externos expertos 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 líofilos 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 una paciente de 75 años de edad, que acudía a urgencias de su hospital de área por presentar desde hacía 72 horas malestar general, fiebre elevada (hasta 39°C), escalofríos y sensación de náuseas. Como antecedentes de interés presentaba hipertensión arterial, dislipidemia y hacía tres años se le realizó un recambio valvular por una estenosis aórtica además de una dilatación aneurismática de aorta ascendente. No refería otros antecedentes patológicos de interés ni haber sido sometida recientemente a procedimientos dentales, urológicos ni digestivos. Vivía en el medio rural, dedicada a la ganadería y comentaba que hacía 12 días había ayudado a su marido a atender el parto de una yegua. A la exploración, presentaba regular estado general, fiebre termometrada de 38,4°C, cierta palidez cutáneo-mucosa y respiración eupneica; la auscultación cardíaca, mostraba un clic valvular aórtico metálico y soplo sistólico mitral. Se decidió tomar muestras de sangre para hemocultivos, que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y micológico. La analítica mostraba una leucocitosis de 11.140/mm<sup>3</sup> (85% neutrófilos) y la radiografía de tórax no mostró alteraciones. Se solicitó ecocardiografía transtorácica y ecocardiograma transesofágico que permitieron el diagnóstico clínico del cuadro que presentaba la paciente. A las 48 horas de incubación, creció el microorganismo que fue objeto de este control.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entreplanta. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

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 *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (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 mediante tiras de gradiente de concentración (MIC Test Strip, Liofilchem®) 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 a estreptococos para la interpretación de los resultados.

**Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.**

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		CLSI	EUCAST
Penicilina	0,03	S	S
Eritromicina	0,12	S	S
Clindamicina	0,06	S	S
Vancomicina	0,5	S	S
Levofloxacino	0,094	S	S
Tetraciclina	≤1	S	S
Cotrimoxazol	≤1/19	S	S

<sup>a</sup>S: sensible.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 230 centros inscritos en Bacteriología, de los que 218 remitieron hoja de respuesta. De ellos, un centro comentó del crecimiento de tres microorganismos diferentes, lo que podría ser debido a una contaminación del vial durante su procesamiento, por lo que se excluyó del presente análisis. Así, el porcentaje de participación real fue del 94,4% (217 respuestas), similar al del último control (91,7%).

## IDENTIFICACIÓN

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*S. equi*), así como el de la subespecie (*S. equi* subsp. *zooepidemicus*). La mayoría de los centros (193, el 88,9%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control, y 90 de ellos (41,4%) informaron también la subespecie. La totalidad de las identificaciones informadas por los participantes se muestra en la tabla 2.

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

Identificación	Número	%
<i>Streptococcus equi</i>	103	47,4
<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	90	41,4
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	7	3,2
<i>Streptococcus</i> β-hemolítico grupo C	4	1,8
<i>Streptococcus</i> β-hemolítico	2	0,9
<i>Pasteurella multocida</i>	2	0,9
<i>Streptococcus porcinus</i>	2	0,9
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1	0,5
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	0,5
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	0,5
<i>Streptococcus canis</i>	1	0,5
<i>Streptococcus equinus</i>	1	0,5
<i>Streptococcus</i> grupo A	1	0,5
<i>Streptococcus</i> grupo G	1	0,5
Total	217	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 67,7% de los centros (147), emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, 81 de ellos (37,3%) como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por el 37,8% de los participantes, siendo empleada como único método diagnóstico en el 22,1% de las ocasiones. La aglutinación frente a los antígenos de grupo de Lancefield fue empleada por el 29,5% de los participantes, mientras que solamente 2 laboratorios (0,9%) identificaron la cepa mediante un estudio de secuenciación. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

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

Método	Número	%
Comercial	81	37,3
Espectrometría de masas	48	22,1
Comercial + aglutinación	33	15,2
Comercial + espectrometría de masas	14	6,5

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

Espectrometría de masas + aglutinación	12	5,5
Manual + comercial	7	3,2
Aglutinación	6	2,7
Comercial + espectrometría de masas + aglutinación	6	2,7
Manual + comercial + aglutinación	5	2,3
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,5
Espectrometría de masas + aglutinación + PCR	1	0,5
Manual + aglutinación	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	1	0,5
<b>Total</b>	<b>217</b>	<b>100,0</b>

Los sistemas comerciales utilizados en la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (53 centros), seguido de las tarjetas VITEK® 2 (52 centros) y de las galerías API® de bioMérieux (46 centros, agrupando el API® 20 Strep y Rapid ID 32 STREP™).

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

<b>Marca comercial</b>	<b>Número</b>	<b>% uso</b>	<b>% acierto</b>
MALDI-TOF (Bruker)	53	25,7	96,2
VITEK® 2	52	25,2	86,5
MALDI-TOF (VITEK® MS)	24	11,7	95,8
API® 20 Strep (bioMérieux)	21	10,2	100,0
API® no especificado (bioMérieux)	19	9,2	94,7
MicroScan	17	8,3	88,2
Phoenix™	6	2,9	83,3
rapid ID 32 STREP™ (bioMérieux)	6	2,9	83,3
BBL CRYSTAL™ (Becton Dickinson)	2	1,0	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	1	0,5	100,0
No especifica	5	2,4	80,0
<b>Total</b>	<b>206</b>	<b>100,0</b>	<b>92,3</b>

La capacidad de los sistemas comerciales más empleados para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Los mejores resultados se obtuvieron con la galería API® 20 Strep (100% de aciertos), seguida del MALDI-TOF de Bruker (96,2%) y del VITEK® MS (95,8%). Los sistemas BBL CRYSTAL™ y Wider, si bien obtuvieron un 100,0% de aciertos, fueron realizados por muy pocos centros, por lo que estos datos se deben de tomar con cautela.

**Tabla 5. Resultados de identificación de *S. equi* con los sistemas mayoritarios.**

Sistema	Número usuarios	<i>S. equi</i>	<i>S. dysgalactiae</i>	Otras especies de <i>Streptococcus</i>	Especies de otro género
MALDI-TOF (Bruker)	53	51 (96,2)	1 (1,9)	0	1 (1,9)
VITEK® 2	52	45 (86,5)	1 (1,9)	3 (5,8)	3 (5,8)
MALDI-TOF (VITEK® MS)	24	23 (95,8)	1 (4,2)	0	0
API® 20 Strep	21	21 (100,0)	0	0	0
API® no especificado	19	18 (94,7)	1 (5,3)	0	0
MicroScan	17	15 (88,2)	1 (5,9)	0	1 (5,9)
Phoenix™	6	5 (83,3)	0	1 (16,7)	0
Rapid ID 32 STREP™	6	5 (83,3)	1 (16,7)	0	0
BBL Crystal™	2	2 (100,0)	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 212 centros que realizaron una identificación mínima de género *Streptococcus*. De ellos, cuatro no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 208 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 106 (51,0%), empleándose como método único en el 38,9% de los casos. Hubo 98 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (47,1%), de los que 39 (18,8%) lo hicieron de forma única. Las tiras de gradiente de concentración fueron empleadas por 75 centros (36,1%), y como único método en el 10,1% de las ocasiones. Por último, hubo un centro (0,5%) que envió la cepa a un centro externo que no le informó del método empleado. El conjunto de los métodos empleados se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución	81	38,9
Disco-placa + tiras gradiente concentración	41	19,7
Disco-placa	39	18,8
Tiras gradiente concentración	21	10,1
Microdilución + disco-placa	12	5,7
Microdilución + tiras gradiente concentración	7	3,4
Microdilución + disco-placa + tiras gradiente concentración	6	2,9
No informa	1	0,5
Total	208	100,0

Sobre un total de 156 respuestas, los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron VITEK® 2 (26,9%) y MicroScan (25,7%), seguidos de las tiras E-test® (22,4%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

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

Marca	Número	%
VITEK® 2 (bioMérieux)	42	26,9
MicroScan (Beckman Coulter)	40	25,7
E-test® (bioMérieux)	35	22,4
Wider® (Soria Melguizo)	8	5,1
MIC Test Strip (Liofilchem®)	7	4,5
Sensititre™ (Thermo Scientific)	7	4,5
Phoenix™ (Becton Dickinson)	4	2,6
Oxoid (tiras gradiente concentración)	2	1,3
Preparación propia	1	0,6
No especifican	10	6,4
Total	156	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, se tenía que informar de los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación de su antibiograma. Así, de los 208 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Streptococcus*, 105 (50,5%) emplearon los criterios del CLSI, otros 90 (43,3%) los del EUCAST, mientras que 11 (5,2%) utilizaron criterios de ambos comités, y otro laboratorio (0,5%) se basó en la bibliografía. Por último, hubo un centro (0,5%) que envió la cepa a un laboratorio externo y no aporta información al respecto (tabla 8).

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

Criterio	Número	%
CLSI	105	50,5
EUCAST	90	43,3
CLSI + EUCAST	11	5,2
Bibliografía	1	0,5

No informan	1	0,5
Total	208	100,0

En total, se recibió resultados de 44 antibióticos diferentes. En la tabla 9 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad sólo cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue igual o superior a 30.

**Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos (>= 30 participantes).**

Antibiótico	Número	Categorización <sup>a</sup>			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Penicilina	180	180 (100,0)	0	0	0
Ampicilina	98	98 (100,0)	0	0	0
Cefotaxima	141	141 (100,0)	0	0	0
Ceftriaxona	53	98 (100,0)	0	0	0
Eritromicina	161	145 (90,1)	6 (3,7)	10 (6,2)	0
Clindamicina	170	61 (35,9)	14 (8,2)	94 (55,3)	1 (0,6)
Levofloxacino	131	129 (98,5)	0	2 (1,5)	0
Cotrimoxazol	49	41 (83,7)	0	8 (16,3)	0
Tetraciclina	57	28 (49,1)	21 (36,9)	8 (14,0)	0
Vancomicina	179	178 (99,5)	1 (0,5)	0	0
Linezolid	92	92 (100,0)	0	0	0

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

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 y sin efectos de comparación. En el antibiograma se consideran resultados **NO Aceptables** los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente). Los errores menores y mayores, siempre que no supongan un cambio importante en el tratamiento del microorganismo estudiado, se consideran aceptables.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado para la mayoría de los antibióticos. La principal discrepancia entre los centros se obtuvo con la clindamicina, en la que se observa una amplia variabilidad sin asociarse con ningún método o marca en concreto.

## 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 217 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entreplanta. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

obtuvieron los siguientes datos: 208 (95,9%) afirmaron no haberlo utilizado, 5 (2,3%) declararon haberlo requerido y otros 4 (1,8%) lo emplearon parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (90 participantes) se refería a la subespecie de la cepa control, *S. equi* subsp. *zooepidemicus*. Algunos participantes (22) señalaron que la cepa aglutinaba frente al antígeno C de Lancefield.

Trece participantes comentaron explícitamente que la cepa era resistente a la clindamicina, o que encontraron discordancias entre dos métodos.

Otros comentarios fueron acerca de las recomendaciones terapéuticas (10 centros), principalmente la asociación de penicilina o ceftriaxona más gentamicina. Algunos centros (8) comentaron que *S. equi* era responsable de una zoonosis, seis que el paciente tenía una endocarditis y cuatro que la cepa remitida era mucosa.

**Nota.-** Todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar, así como de lectura interpretada de antibiograma, no serán objeto de evaluación por parte del Programa CCS.

Madrid, 12 de junio de 2017

Concepción Gimeno Cardona

**Coordinadora 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.

**Nota:** Las actividades subcontratadas por el Programa CCS son: el transporte de las muestras, el valor asignado, y los estudios de homogeneidad y estabilidad. Si en un determinado momento, se requiere la subcontratación de otras actividades diferentes a las indicadas anteriormente, serán debidamente informadas.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)