

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-2/17

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 externos 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 la de un paciente varón de 69 años, diabético e hipertenso, que era intervenido quirúrgicamente por una neoplasia de colon. A los 4 días de la operación, el paciente sufrió un empeoramiento de su estado, con malestar general, elevación de la temperatura corporal y dolor intenso en la zona de la herida quirúrgica. Se decidió retirar el vendaje y se observó un área de edema y enrojecimiento alrededor de la herida, con bordes inflamados y presencia de exudado purulento y maloliente. El paciente presentaba mal estado general, con fiebre de 39,2°C, hipotensión y taquipnea. Se realizó limpieza y desbridamiento de la herida y se tomaron muestras de exudado que se remitieron al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, antes de iniciar cobertura antibiótica de amplio espectro. La tinción de Gram mostró la presencia de bacilos gramnegativos y cocos grampositivos formando tétradas. A las 48 h de incubación, se obtuvo crecimiento, entre otros, del microorganismo 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 *Bacteroides fragilis* (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 tiras de gradiente de concentración (E-test® de bioMérieux y MIC Test Strip de 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 los anaerobios gramnegativos para la interpretación de los resultados.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		CLSI	EUCAST
Penicilina	>256	R	R
Amoxicilina-clavulanato	0,5	S	S
Piperacilina-tazobactam	0,25	S	S
Imipenem	0,125	S	S
Cefoxitina	48	I	NI
Clindamicina	4	I	S
Metronidazol	0,19	S	S

^aS: sensible, R: resistente, I: intermedio, NI: no interpretada.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 232 centros inscritos en Bacteriología, de los que 210 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 90,5%. En cuatro ocasiones, tras la siembra de la muestra, no se obtuvo crecimiento (1,9%), lo que se explica presumiblemente por la no incubación de las placas en atmósfera de anaerobiosis, mientras que otro centro mencionó que se les contaminó el cultivo con otra cepa de un control de calidad distinto a éste. Así, hubo 205 respuestas analizables, con lo que el porcentaje real de participación fue del 88,4%, inferior al del último control (92,3%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida la identificación mínima de género *Bacteroides*. La gran mayoría de los centros (172, el 83,9%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control, el 4,4% informó *Bacteroides stercoris* y el 1,5% género *Bacteroides* u otras especies dentro del mismo género. El total de las identificaciones informadas se muestra en la tabla 2. En este control se han detectado identificaciones cruzadas con otras cepas del Programa de Control de Calidad, como son los cuatro centros (2,0%) que informaron *Hafnia alvei*, cepa que correspondía al control mensual BX-julio-17.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Bacteroides fragilis</i>	172	83,9
<i>Bacteroides stercoris</i>	9	4,4
<i>Hafnia alvei</i>	4	2,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	1,5
<i>Prevotella disiens</i>	2	0,9
<i>Prevotella loescheii</i>	2	0,9
<i>Streptococcus</i> grupo G	2	0,9
<i>Aerococcus viridans</i>	1	0,5
Bacilo gramnegativo anaerobio	1	0,5
<i>Bacteroides ovatus</i>	1	0,5
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	1	0,5
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0,5
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	0,5
<i>Escherichia coli</i>	1	0,5
Género <i>Bacteroides</i>	1	0,5
Género <i>Clostridium</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0,5
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,5
Total	205	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

De los 205 centros que obtuvieron crecimiento, algo más de la mitad (109, el 53,2%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, 93 de ellos (45,3%) como método único. Respecto a la espectrometría de masas, fue utilizada por 90 centros (43,9%), siendo empleada como único método diagnóstico en el 41,0% de las ocasiones. En cuanto a las pruebas manuales, fueron informadas por 17 laboratorios (8,3%), 10 de ellos (4,9%) de forma única. Por último, sólo un laboratorio (0,5%) recurrió un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	93	45,3
Espectrometría de masas	84	41,0
Manual	10	4,9
Manual + comercial	7	3,4
Comercial + espectrometría de masas	6	2,9
Comercial + aglutinación	3	1,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	205	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (64 centros), seguido de las tarjetas VITEK® 2 (41 centros) y de la galería API® 20 A (35 centros), ambos de bioMérieux.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	64	32,0	97,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	41	20,5	58,5
API® 20 A (bioMérieux)	35	17,5	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	25	12,5	92,0
RapID ID 32 A (bioMérieux)	15	7,5	100,0
BBL Crystal™ (Becton Dickinson)	5	2,5	100,0
MicroScan (Beckman Coulter)	5	2,5	20,0
RapID™ ANA II System (Remel)	4	2,0	50,0
Phoenix™	3	1,5	33,3
API® 20 E	1	0,5	0,0
Wider (Soria Melguizo)	1	0,5	0,0
No especifica	1	0,5	100,0
Total	200	100,0	84,5

La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Los mejores resultados se obtuvieron con las galerías API® 20 A y RapID ID 32 A (ambas de bioMérieux), y BBL™ Crystal™ (de Becton Dickinson), con un 100% de aciertos. A continuación, le siguen el MALDI-TOF de Bruker (97,0% de aciertos) y el MALDI-TOF VITEK® MS (92,0%). Si bien hay que señalar que los cuatro fallos en la identificación de la espectrometría de masas se debieron probablemente a que se trabajó una cepa diferente a la enviada en este control. Estas cuatro especies fueron *H. alvei* (2 cepas), *Enterobacter agglomerans* (1) y *Escherichia coli* (1). En cuanto al resto de sistemas comerciales, se obtuvo resultados inferiores al 60%.

Tabla 5. Resultados de identificación de *B. fragilis* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>B. fragilis</i>	<i>B. stercoris</i>	<i>H. alvei</i>	<i>P. disiens</i>	<i>P. loescheii</i>	Otras especies
MALDI-TOF Bruker	64	62 (97,0)	0	1 (1,5)	0	0	1 (1,5)
VITEK® 2	41	24 (58,5)	9 (22,0)	1 (2,4)	2 (4,9)	0	5 (12,2)
API® 20 A	35	35 (100,0)	0	0	0	0	0
MALDI-TOF VITEK MS	25	23 (92,0)	0	1 (4,0)	0	0	1 (4,0)
RapID ID 32 A	15	15 (100,0)	0	0	0	0	0
BBL™ Crystal™	5	5 (100,0)	0	0	0	0	0
MicroScan	5	1 (20,0)	0	0	0	0	4 (80,0)
RapID™ ANA II System	4	2 (50,0)	0	0	0	2 (50,0)	0
Phoenix™	3	1 (33,3)	0	0	0	0	2 (66,7)

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 184 centros que realizaron una identificación mínima de género *Bacteroides*. De ellos, 23 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 161 antibiogramas. Hubo 96 laboratorios (59,6%) que emplearon las tiras de gradiente de concentración, 75 de ellos como único método. La técnica de difusión en disco-placa fue informada 54 centros (33,6%), de los que más de la mitad (34) lo hicieron de forma única. El número de participantes que realizaron el método de la concentración crítica fue de 19 (11,8%), mientras que 14 laboratorios (8,7%) determinaron la CMI mediante una técnica de microdilución en caldo. Solamente hubo un participante (0,6%) que no especificó el método empleado. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Tiras de gradiente de concentración	75	46,6
Disco-placa	34	21,1
Concentración crítica	18	11,2

Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	18	11,2
Microdilución	10	6,2
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	3	1,9
Disco-placa + concentración crítica	1	0,6
Microdilución + disco-placa	1	0,6
No informa	1	0,6
Total	161	100,0

Sobre un total de 126 respuestas, los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron las tiras de E-test® de bioMérieux (47,6%), seguidas de la galería ATB™ ANA de bioMérieux (15,1%) y de las tiras MIC Test Strip de Liofilchem® (11,9%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
E-test® (bioMérieux)	60	60
ATB™ ANA (bioMérieux)	19	19
MIC Test Strip (Liofilchem®)	15	15
Sensititre™ (Thermo Scientific)	9	9
Oxoid (tiras gradiente concentración)	8	8
MicroScan (Beckman Coulter)	1	1
No especifica	14	14
Total	126	126

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes que categorizaran tal cual el valor obtenido en el antibiograma 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 debía informar los criterios de puntos de corte seguidos para la interpretación de su antibiograma.

Así, de los 161 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Bacteroides*, 86 (53,4%) utilizaron los criterios del EUCAST, y 62 (38,5%) los del CLSI, mientras que los 13 restantes (8,1%) se basaron en la bibliografía (tabla 8).

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

Marca	Número	%
EUCAST	86	53,4
CLSI	62	38,5
Bibliografía	13	8,1
Total	161	100,0

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).

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 recibieron resultados correspondientes a 28 antibióticos diferentes, pero tan sólo 7 fueron informados por 30 o más participantes.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Nº	Categorización ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Penicilina	109	3 (2,7)	0	106 (97,3)	0
Amoxicilina-clavulanato	151	141 (93,4)	1 (0,6)	9 (6,0)	0
Piperacilina-tazobactam	101	99 (98,0)	0	2 (2,0)	0
Cefoxitina	51	16 (31,4)	3 (5,9)	32 (62,7)	0
Imipenem	130	128 (98,5)	0	2 (1,5)	0
Clindamicina	142	121 (85,2)	5 (3,5)	16 (11,3)	0
Metronidazol	153	146 (95,4)	3 (2,0)	4 (2,6)	0

^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 de la cefoxitina, en la que se observó una importante discrepancia entre los diferentes centros. La cepa de *B. fragilis*, de acuerdo al valor asignado, presentaba una CMI a la cefoxitina de 32-48 µg/mL. EUCAST carece de puntos de corte para la cefoxitina, mientras que por CLSI (documento M100, enero 2017) se correspondería con la categoría de Intermedio (sensible con CMI ≤16 µg/mL y resistente ≥64 µg/mL).

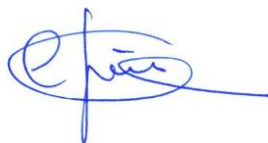
UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, de los 205 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 196 laboratorios (95,6%) afirmaron no haberlo empleado, 5 centros (2,4%) declararon haberlo requerido y otros 4 centros (2,0%) lo utilizaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario se refería a que la cepa de *B. fragilis* era productora de β -lactamasa (10 participantes). Otros comentarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con metronidazol.

Madrid, 8 de noviembre de 2017



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 el transporte de las muestras, el valor asignado (consenso de expertos), y los estudios de homogeneidad y estabilidad. Si en un determinado momento se necesita subcontratar otras actividades diferentes a las indicadas se informará debidamente. Las actividades subcontratadas que afectan al valor asignado y a los estudios de homogeneidad son realizadas por colaboradores externos que cumplen con los requerimientos de la norma ISO 17043 y/o por laboratorios expertos seleccionados que han sido evaluados previamente por el Programa CCS. En caso de subcontratación de laboratorios externos, todos los análisis se realizarán bajo 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.