

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-4/19

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 una mujer de 53 años, fumadora de 15 cigarrillos/día desde hacía más de 20 años, con antecedentes de colitis ulcerosa y con varias intervenciones para control de su enfermedad de base. Tras la última recaída, fue sometida a una hemicolectomía parcial. A la semana de realizada dicha intervención, la paciente iniciaba un cuadro de fiebre elevada, hipotensión y rápido deterioro de su estado general que le obligó a reingresarla en la unidad de cuidados intensivos. Se le extrajeron dos frascos de hemocultivos y una muestra de sangre para hemograma. Analíticamente presentaba una leucocitosis con 18.000 leucocitos (88% neutrófilos) y proteína C reactiva de 60 mg/L. Como prueba diagnóstica añadida, se realizó un TAC en el que se detectaba una masa tisular abdominal de baja densidad, con una cápsula bien definida. Se decidió biopsiar la masa, que fue remitida al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, aislándose a las 48h de incubación la cepa que fue objeto del presente 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) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante tiras de gradiente de concentración 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 a los anaerobios gramnegativos.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		EUCAST (V 9.0-2019)	CLSI (M100-29E-2019)
Penicilina	>256	R	R
Amoxicilina-clavulanico	3	– <sup>b</sup>	S
Piperacilina-tazobactam	1	S	S
Cefoxitina	8	EI	S
Imipenem	0,19	S	S
Clindamicina	1,5	S	S
Metronidazol	0,25	S	S

<sup>a</sup>S: sensible, R: resistente, EI: evidencia insuficiente

<sup>b</sup>No se incluyen los resultados de amoxicilina-ácido clavulánico según los criterios de EUCAST debido a que el método utilizado presenta una concentración variable de inhibidor.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 230 centros inscritos en Bacteriología, de los que 205 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 89,1%, ligeramente inferior al del último control (93,0%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*B. fragilis*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros participantes (185, el 90,2%) identificaron correctamente la especie de la cepa control.

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

Identificación	Número	%
<i>Bacteroides fragilis</i>	185	90,2
<i>Bacteroides stercoris</i>	5	2,4
<i>Prevotella oralis</i>	4	1,9
<i>Aerococcus viridans</i>	1	0,5
Bacilo gramnegativo	1	0,5
Bacilo gramnegativo anaerobio	1	0,5
<i>Bacteroides ovatus</i>	1	0,5
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	1	0,5
<i>Escherichia coli</i>	1	0,5
Género <i>Bacteroides</i>	1	0,5
<i>Parabacteroides distasonis</i>	1	0,5
<i>Prevotellabivia</i>	1	0,5
<i>Prevotella melaninogenica</i>	1	0,5
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0,5
Total	205	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, algo más de la mitad de los centros que obtuvieron crecimiento (118, el 57,6%) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que un 56,1% las usaron como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por el 40,5% de los participantes (83), y como único método diagnóstico por el 35,1% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, fueron informadas por 14 laboratorios (6,8%), 6 de ellos (2,9%) de forma única. Por último, sólo un centro (0,5%) recurrió a 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	%
Espectrometría de masas	115	56,1
Comercial	72	35,1
Manual + comercial	7	3,4
Manual	6	2,9

Comercial + espectrometría de masas	2	1,0
Comercial + aglutinación	1	0,5
Manual + comercial + espectrometría de masas	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
Total	205	100,0

Los sistemas comerciales utilizándose muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (85 centros), seguido de las tarjetas VITEK® 2 (33 centros), del MALDI-TOF de VITEK® MS (32 centros) y de la galería API® 20 A (23 centros), estos tres últimos sistemas de bioMérieux.

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	85	42,9	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	33	16,7	66,7
MALDI-TOF (VITEK® MS)	32	16,2	96,9
API® 20 A (bioMérieux)	23	11,6	95,7
RapID ID 32 A (bioMérieux)	8	4,0	87,5
RapID™ ANA II System (Remel)	6	3,0	83,3
MicroScan (Beckman Coulter)	5	2,6	60,0
BBL™Crystal™ (Becton Dickinson)	2	1,0	100,0
Phoenix™	1	0,5	100,0
Wider (Soria Melguizo)	1	0,5	100,0
No especifica	2	1,0	100,0
Total	198	100,0	91,4

La capacidad de los sistemas comerciales empleados para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Entre los sistemas empleados de forma mayoritaria, los mejores resultados se obtuvieron con MALDI-TOF de Bruker (100,0% de aciertos), seguido por MALDI-TOF de VITEK® MS bioMérieux (96,9% de aciertos) y de la galería API® 20 A de bioMérieux (95,7% de aciertos).

**Tabla 5. Resultados de identificación con los sistemas comerciales más empleados<sup>a</sup>.**

Sistema	Número	<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Prevotella oralis</i>	Otras especies <sup>b</sup>
MALDI-TOF Bruker	85	85 (100,0)	0	0	0
VITEK® 2	33	22 (66,7)	5 (15,1)	3 (9,1)	3(9,1)
MALDI-TOF VITEK® MS	32	31 (96,9)	0	0	1(3,1)
API® 20 A	23	22 (95,7)	0	0	1(4,3)
RapID ID 32 A	8	7 (87,5)	0	0	1 (12,5)
RapID™ ANA II (Remel)	6	5 (83,3)	0	0	1 (16,7)
MicroScan	5	3 (60,0)	0	1 (20,0)	1 <sup>c</sup> (20,0)

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

<sup>b</sup>Otras especies: *Aerococcus viridans* (VITEK® 2), *Bacteroides thetaiotaomicron* (VITEK® 2) y *Prevotella bivia* (VITEK® 2); *Escherichia coli* (VITEK® MS), *Parabacteroides distasonis* (API® 20 A); *Bacteroides ovatus* (RapID ID 32 A); *Prevotella melaninogenica* (RapID™ ANA II), *Streptococcus agalactiae* (MicroScan).

<sup>c</sup>Respuesta cruzada con el control mensual de marzo de 2020.

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 194 centros que realizaron una identificación mínima de género *Bacteroides*. De ellos, 16 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 170 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante tiras de gradiente de concentración fue de 109, de los cuales en 83 (48,8%) fue el único método realizado. Hubo 46 laboratorios (27,1%) que emplearon una técnica de difusión en disco-placa, de los que 23 (13,5%) lo hicieron de forma única. La microdilución en caldo fue informada por 24 laboratorios (14.1%), mientras que el método de la concentración crítica se utilizó en 16 ocasiones (9,4%). Solamente hubo un participante (0,6%) que no especificó el método empleado. El conjunto de los métodos informados se muestra en la tabla 6.

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

Método	Número	%
Tiras de gradiente de concentración	83	48,8
Disco-placa	23	13,5
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	23	13,5
Microdilución	21	12,4
Concentración crítica	16	9,4
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	3	1,8
No informa	1	0,6
Total	170	100,0

Sobre un total de 145 respuestas, los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron las tiras de E-test® de bioMérieux (51,7%), seguidas de las tiras MIC Test Strip de Liofilchem® (13,1%), de la galería ATB™ ANA de bioMérieux (10,4%), y de la placa Sensititre™ (8,3%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

**Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma**

Marca	Número	%
E-test® (bioMérieux)	75	51,7
MIC Test Strip (Liofilchem®)	19	13,1
ATB™ ANA (bioMérieux)	15	10,4
Sensititre™ (Thermo Scientific)	12	8,3
VITEK®	3	2,0
Micronaut (Merlin Diagnostika)	2	1,3
Bio-Rad (tiras gradiente de concentración)	1	0,7
MicroScan (Beckman Coulter)	1	0,7
Oxoid (tiras gradiente de concentración)	1	0,7
Wider (Soria Melguizo)	1	0,7
No específica <sup>a</sup>	15	10,4
Total	145	100,0

<sup>a</sup>Métodos: tiras de gradiente de concentración (11), microdilución (3), no informa (1).

## 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 170 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Bacteroides*, 134 (78,8%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 25 (14,7%) los del CLSI, mientras que los 11 restantes (6,5%) se basaron en la bibliografía (tabla 8).

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

Marca	Número	%
EUCAST	134	78,8
CLSI	25	14,7
Bibliografía	11	6,5
Total	170	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 29 antibióticos diferentes, pero tan sólo 8 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 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Nº	Categorización <sup>a</sup>				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Penicilina	101	3 (3,0)	0	98 (97,0)	0	0
Amoxicilina-clavulanico	157	75 (47,8)	23 (14,7)	57 (36,3)	1 (0,6)	1 (0,6)
Piperacilina-tazobactam	107	100 (93,5)	1 (0,9)	6 (5,6)	0	0
Cefoxitina	42	30 (71,4)	2 (4,8)	7 (16,7)	3 (7,1)	0
Imipenem	132	129 (97,6)	1 (0,8)	1 (0,8)	1 (0,8)	0
Meropenem	31	22 (71,0)	6 (19,3)	3 (9,7)	0	0
Clindamicina	152	120 (78,9)	3 (2,0)	29 (19,1)	0	0
Metronidazol	162	157 (96,9)	0	4 (2,4)	1 (0,7)	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 el valor asignado del estudio de sensibilidad para todos los antibióticos analizados, con la excepción de la amoxicilina-clavulánico. Ello se debe a que la cepa presenta, según el antibiograma de referencia, una CMI a este antimicrobiano de 3 µg/mL. El punto

de corte de la categoría de sensible para el amoxicilina-clavulánico, tanto para CLSI como para EUCAST es de 4 µg/mL, por lo que con una dilución superior a la obtenida la cepa hubiera presentado una sensibilidad intermedia.

### CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

De acuerdo con los dos laboratorios expertos empleados para el valor asignado de referencia, el aislado de *B. fragilis* remitido era productor de β-lactamasa. De los 170 laboratorios con la identificación mínima de género *Bacteroides* que efectuaron antibiograma, tan solo 14 realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa. El conjunto de los comentarios informados se resume en la tabla 10. Tan solo 8 participantes (4,7%) especificaron explícitamente que la cepa control era productora de β-lactamasa (característica fenotípica principal).

**Tabla 10. Detección de la característica fenotípica especial.**

Marca	Número	%
Cepa productora de β-lactamasa	8	4,7
Cepa resistente a la amoxicilina-clavulanico	2	1,2
Cepa portadora del gen <i>cfiA</i> (carbapenemasa)	1	0,6
Cepa productora de BLEE	1	0,6
Cepa resistente a metronidazol	1	0,6
Posible cepa productora de carbapenemasa de baja expresión	1	0,6
Sin información específica	156	91,7
Total	170	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 205 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 197 centros (96,1%) afirmaron no utilizarlo, 1 centro (0,5%) declaró haberlo requerido, y los 7 restantes (3,4%) lo emplearon parcialmente.

### COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, otros comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas (4 centros), principalmente el tratamiento con metronidazol, piperacilina-tazobactam o carbapenemas.

Hubo 3 centros que señalaron que habían realizado el antibiograma mediante difusión con discos, reconociendo que ni CLSI ni EUCAST recomendaban este método en bacterias anaerobias.



Madrid, 11 de mayo de 2020



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.