

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-3/20

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 81 años, diabética, obesa y con antecedentes de insuficiencia cardiaca e hipertensión arterial pulmonar que fue llevada al Servicio de Urgencias de su hospital de referencia por un cuadro de 9 días de evolución que cursaba con mal estado general, astenia, sensación de mareo y un par de vómitos alimentarios en las 24 horas previas. En la exploración física, la paciente presentaba fiebre de 38,5 °C y una presión arterial de 73/39 mmHg; se encontraba poco colaboradora y destacaba su somnolencia. En la analítica, realizada en urgencias, se observaba una leucocitosis de 16.150/mm³, procalcitonina de 25 ng/mL y bilirrubina total de 1,7 mg/dL. Se decidió realizar una ecografía abdominal en la que se visualizó una vesícula biliar con evidencia de litiasis. Se procedió al ingreso de la paciente en la Unidad de Cuidados Intensivos. Antes de iniciar tratamiento antibiótico de amplio espectro, se extrajeron dos frascos de hemocultivos que fueron remitidos al Servicio de Microbiología, creciendo a las 12 h de incubación el microorganismo 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.

B-3/20

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Streptococcus anginosus* (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 *Streptococcus* spp. del grupo viridans para la interpretación de los resultados.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		EUCAST (V 10.0-2020)	CLSI (M100S30-2020)
Penicilina	0,064	S	S
Ampicilina	0,5	S	S
Cefotaxima	0,125	S	S
Imipenem	0,047	S	S
Clindamicina	0,094	S	S
Levofloxacino	0,75	EI	S
Vancomicina	0,5	S	S
Tedizolida	0,25	S	S

^aS: sensible, EI: evidencia insuficiente.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 229 centros inscritos en Bacteriología, de los que 205 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 89,5%, similar al del último control (90,4%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*S. anginosus*). Como se puede observar en la tabla 2, la mayoría de los centros participantes (189, el 92,2%) identificaron correctamente la especie de la cepa control. Algunos resultados discrepantes correspondían probablemente a respuestas cruzadas con otras cepas del Control de Calidad SEIMC.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Streptococcus anginosus</i>	189	92,2
<i>Serratia odorifera</i>	3	1,4
<i>Streptococcus sanguinis</i>	3	1,4
<i>Streptococcus constellatus</i>	2	1,0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	1,0
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0,5
<i>Gemella morbillorum</i>	1	0,5
<i>Morganella morganii</i>	1	0,5
<i>Streptococcus intermedius</i>	1	0,5
<i>Streptococcus milleri</i>	1	0,5
<i>Streptococcus salivarius</i>	1	0,5
Total	205	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 60,0% de los centros (123) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 113 (55,0%) la usaron como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por el 42,4% de los participantes (n=87), y como único método diagnóstico por el 35,1% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, se informaron por 7 laboratorios (3,4%), 2 de ellos (1,0%) de forma única. Por último, la aglutinación frente a los antígenos de grupo de Lancefield fue informada por el 1,5% de los participantes, mientras que únicamente un laboratorio (0,5%) recurrió al 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	113	55,0
Comercial	72	35,1
Comercial + espectrometría de masas	8	3,9
Comercial + aglutinación	2	1,0
Comercial + inmunocromatografía	2	1,0
Manual	2	1,0
Manual + comercial	2	1,0
Manual + espectrometría de masas	2	1,0
Manual + comercial + aglutinación	1	0,5
Secuenciación	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 (85 centros), seguido de las tarjetas VITEK® 2 (44 centros) y del MALDI-TOF de VITEK® MS (34 centros), estos dos últimos de bioMérieux. Hay que matizar que algunos de los fallos en la identificación de estos sistemas comerciales se debieron a identificaciones cruzadas con otras cepas del Programa de Control de Calidad SEIMC.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	85	42,1	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	44	21,8	95,5
MALDI-TOF (VITEK® MS)	34	16,8	97,1
MicroScan (Beckman Coulter)	18	8,9	77,8
API® 20 STREP (bioMérieux)	13	6,4	61,5
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	4	2,0	75,0
BD BBL™ Crystal™ (Becton Dickinson)	3	1,5	66,7
RapID™ ONE (Remel, ThermoFisher)	1	0,5	0,0
Total	202	100,0	92,6

Tabla 5. Resultados de identificación de *S. anginosus* con los sistemas comerciales más empleados^a.

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

Sistema	Nº	<i>S. anginosus</i>	<i>S. sanguinis</i>	<i>S. constellatus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. milleri</i>	<i>S. salivarius</i>	Otras identificaciones
MALDI-TOF Bruker	85	85 (100,0)	0	0	0	0	0	0	0
VITEK 2	44	42 (95,4)	1 (2,3)	0	0	0	0	0	1 (2,3)
MALDI-TOF VITEK	34	33 (97,1)	0	0	0	0	0	0	1 (2,9)
MicroScan	18	14 (77,8)	1 (5,5)	0	2 (11,2)	0	1 (5,5)	0	0
API 20 STREP	13	8 (61,5)	1 (7,7)	2 (15,4)	0	1 (7,7)	0	1 (7,7)	0
BD Phoenix	4	3 (75,0)	0	0	0	0	0	0	1 (25,0)
BD BBL Crystal	3	2 (66,7)	0	0	0	0	0	0	1 (33,3)

^bIncluyen: *Serratia odorifera* (3), *Morganella morganii* (1).

La capacidad de los sistemas comerciales empleados para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Los mejores resultados se obtuvieron con el MALDI-TOF de Bruker (100% de aciertos) y de VITEK® MS (97,1%, por una respuesta cruzada de otro control), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (95,4% de ciertos).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 199 centros que realizaron una identificación mínima de género *Streptococcus*. De ellos 3 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 196 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 120 (61,2%), empleándose como método único en el 49,0% de los casos. Hubo 76 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (38,8%), de los que 4 (1,9%) lo hicieron de forma única. Por último, fueron 60 (30,6%) los centros que emplearon las tiras de gradiente de concentración, utilizadas de forma aislada por el 7,6% de los mismos. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	96	49,0
Disco-placa	31	15,8
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	30	15,3
Tiras de gradiente de concentración	15	7,6
Microdilución + disco-placa	9	4,6
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	9	4,6
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	6	3,1
Total	196	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de las CMI mediante los métodos de microdilución y tiras de gradiente de concentración fueron las tarjetas VITEK® 2 (37,2%), seguidas de los paneles de MicroScan (23,8%) y de las tiras de Etest® (17,7%). El conjunto de las marcas informadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
VITEK® 2 (bioMérieux)	61	37,2
MicroScan (Beckman Coulter)	39	23,8
Etest® (bioMérieux)	29	17,7
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	10	6,1
MIC Test Strip (Liofilchem®)	8	4,9
Sensititre™ (Thermo Fisher)	5	3,0
Wider® (Soria Melguizo)	1	0,6
No específica ^a	11	6,7
Total	164	100,0

^aMétodos: tiras de gradiente de concentración (11).

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 196 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Streptococcus*, 170 (86,7%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 18 (9,2%) los del CLSI, mientras que los 8 restantes (4,1%) se basaron en ambos comités. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Marca	Número	%
EUCAST	170	86,7
CLSI	18	9,2
CLSI + EUCAST	8	4,1
Total	196	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 39 antibióticos diferentes, pero tan solo 12 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 ^a				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Ampicilina	114	111 (97,4)	0	3 (2,6)	0	0
Cefotaxima	138	136 (98,6)	0	2 (1,4)	0	0
Ceftriaxona	64	62 (96,9)	0	2 (3,1)	0	0
Clindamicina	165	161 (97,6)	1 (0,6)	3 (1,8)	0	0
Eritromicina	124	114 (92,0)	1 (0,8)	5 (4,0)	3 (2,4)	1 (0,8)
Levofloxacino	109	101 (92,7)	2 (1,8)	1 (0,9)	4 (3,7)	1 (0,9)
Linezolid	82	80 (97,6)	1 (1,2)	0	1 (1,2)	0
Moxifloxacino	32	31 (96,9)	0	0	1 (3,1)	0
Penicilina	171	165 (96,5)	2 (1,2)	4 (2,3)	0	0
Teicoplanina	49	49 (100,0)	0	0	0	0
Tetraciclina	51	51 (100,0)	0	0	0	0
Vancomicina	165	164 (99,4)	0	1 (0,6)	0	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, con algunos errores anecdóticos.

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: 199 laboratorios (97,1%) afirmaron no haberlo utilizado, 2 centros (1,0%) sí lo requirieron, y los 4 restantes (1,9%) lo emplearon sólo parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (4 centros) se refería a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con ceftriaxona, ampicilina o piperacilina-tazobactam. Hubo 3 centros que comentaron que la cepa era sensible a la penicilina, por lo que se podía inferir la sensibilidad al resto de β -lactámicos. Así mismo, hubo 2 participantes que

señalaron que la cepa presentaba un bajo nivel de resistencia a la gentamicina, mientras que otro participante comentó que presentaba un alto nivel de resistencia a la gentamicina.

Por último, 2 laboratorios especificaron explícitamente que era una sepsis por *S. anginosus* de origen biliar.

Madrid, 22 de febrero de 2021



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.