

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-4/21

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 una paciente de siete años, natural de Uruguay, que era llevada a puertas de Urgencias de Pediatría por presentar un cuadro de diarrea de 4 días de evolución acompañada de dolor abdominal de tipo cólico. Como antecedentes de interés, la madre relataba que habían acabado de regresar de un viaje a Montevideo. Las deposiciones eran líquidas y ocasionalmente sanguinolentas con escasa mucosidad. A la exploración, la niña presentaba dolor abdominal difuso a la palpación, de predominio en flanco inferior derecho; no se evidenciaban signos de deshidratación. Tras realizar el examen físico, se decidió la realización de coprocultivo, por lo que se recogió muestra de heces y se envió al servicio de Microbiología para estudio bacteriológico, creciendo a las 48 h 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.

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Yersinia enterocolitica* (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.

B-4/21

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución en caldo, complementado con tiras de gradiente de concentración y difusión con discos, 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 al orden Enterobacterales para la interpretación de los resultados.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 11.0-2021)	CLSI (M100S31-2021)
Piperacilina-tazobactam	≤1/4	S	S
Cefotaxima	≤0,5	S	S
Cefepima	0,064	S	S
Ertapenem	≤0,12	S	S
Gentamicina	≤0,5	S	S
Tobramicina	≤1	S	S
Ciprofloxacino	≤0,06	S	S
Cotrimoxazol	≤1/19	S	S

S: Sensible / Sensible con dosificación estándar.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 234 centros inscritos en Bacteriología, de los que 218 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 93,2%, similar al del último control (94,0%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*Y. enterocolitica*). Como se puede observar en la tabla 2, la práctica totalidad de los centros participantes (215, el 98,6%) identificaron correctamente la especie de la cepa control.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	215	98,6
<i>Yersinia frederiksenii</i>	2	0,9
<i>Escherichia coli</i> O:157 H:7	1	0,5
Total	218	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 58,7% de los centros (128) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, 93 de ellos (42,6%) como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 108 centros (49,5%) y como único método diagnóstico por el 34,8%. En cuanto a las pruebas manuales, fueron informadas por 8 laboratorios (3,6%), uno de ellos (0,5%) las informó de forma única. Por último, hubo 2 centros (0,9%) que realizaron una PCR a tiempo real y otros 2 (0,9%) recurrieron a un estudio de secuenciación para identificar la cepa, uno de ellos mediante secuenciación de última generación. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	93	42,6
Comercial	76	34,8
Comercial + espectrometría de masas	24	11,0
Espectrometría de masas + aglutinación	8	3,6
Manual + comercial	5	2,3
Comercial + aglutinación	2	0,9
Manual + espectrometría de masas	2	0,9
PCR a tiempo real	2	0,9
Aglutinación	1	0,5
Comercial + inmunocromatografía	1	0,5
Espectrometría de masas + aglutinación + PCR	1	0,5
Manual	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
Secuenciación de última generación (NGS)	1	0,5
Total	218	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (76 centros), seguido del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (45 centros), de los paneles MicroScan de Beckman Coulter (44 centros), y de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (37 centros).

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	76	35,5	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	45	21,0	100,0
MicroScan (Beckman Coulter)	44	20,6	97,7
VITEK® 2 (bioMérieux)	37	17,2	97,3
API® 20 E (bioMérieux)	9	4,2	88,9
BD MAX™System	1	0,5	100,0
BD Phoenix™	1	0,5	100,0
FilmArray® (bioMérieux)	1	0,5	100,0
Total	214	100,0	98,6

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos ellos obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de *Y. enterocolitica*, con algunos errores anecdóticos.

Tabla 5. Resultados de identificación de *Y. enterocolitica* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i>	<i>Escherichia coli</i> O:157 H:7
MALDI-TOF (Bruker)	76	76 (100,0)	0	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	45	45 (100,0)	0	0
MicroScan (Beckman)	44	43 (97,7)	0	1 (2,3)
VITEK® 2 (bioMérieux)	37	36 (97,3)	1 (2,7)	0
API® 20 E (bioMérieux)	9	8 (88,9)	1 (11,1)	0

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

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a todos los 217 centros que realizaron la identificación mínima de género *Yersinia*. De ellos, hubo 4 centros que no realizaron el estudio de sensibilidad, mientras que otro centro no introdujo ningún antibiótico en la nueva aplicación, por lo que se analizaron un total de 212 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 195 (92,0%), empleándose como método único en el 83,5% de las ocasiones. Hubo 32 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (15,1%), de los que 16 (7,6%) lo hicieron de forma única. Respecto a las tiras de gradiente de concentración, fueron utilizadas por 6 de los centros (2,8%), en todos los casos combinadas con otro método. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	177	83,5
Disco-placa	16	7,6
Microdilución + disco-placa	13	6,1
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	3	1,4
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	2	0,9
Disco-placa+ tiras de gradiente de concentración	1	0,5
Total	212	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante los métodos de microdilución y tiras de gradiente de concentración fueron los paneles de MicroScan (50,5%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (43,3%). El conjunto de las marcas que se emplearon se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	98	50,5
VITEK® 2 (bioMérieux)	84	43,3
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	8	4,2
Etest® (bioMérieux)	2	1,0
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	0,5
Micronaut (Merlin Diagnostika)	1	0,5
Total	194	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 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 212 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Yersinia*, 195 (92,0%) utilizaron los criterios del EUCAST y los otros 17 (8,0%) los del CLSI. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Marca	Número	%
EUCAST	195	92,0
CLSI	17	8,0
Total	212	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, pero tan solo 18 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/SEI	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Ampicilina	138	21 (15,2)	3 (2,2)	114 (82,6)	0	0
Amoxicilina-clavulanato	128	47 (36,7)	0	80 (62,5)	1 (0,8)	0
Piperacilina-tazobactam	62	61 (98,4)	0	1 (1,6)	0	0
Cefuroxima	62	49 (79,0)	4 (6,5)	9 (14,5)	0	0

Cefoxitina	33	5 (15,2)	3 (9,1)	23 (69,7)	1 (3,0)	1 (3,0)
Cefotaxima	164	159 (97,0)	2 (1,2)	3 (1,8)	0	0
Ceftazidima	77	73 (94,8)	1 (1,3)	3 (3,9)	0	0
Cefepima	72	72 (100,0)	0	0	0	0
Ertapenem	63	63 (100,0)	0	0	0	0
Imipenem	76	76 (100,0)	0	0	0	0
Meropenem	35	35 (100,0)	0	0	0	0
Gentamicina	142	142 (100,0)	0	0	0	0
Tobramicina	37	37 (100,0)	0	0	0	0
Amikacina	66	66 (100,0)	0	0	0	0
Ciprofloxacino	202	201 (99,5)	0	1 (0,5)	0	0
Levofloxacino	30	30 (100,0)	0	0	0	0
Cotrimoxazol	186	186 (100,0)	0	0	0	0
Tigeciclina	36	36 (100,0)	0	0	0	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico. Abreviaturas: S (Sensible / Sensible con dosificación estándar), SEI (Sensible con exposición incrementada)

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado del estudio de sensibilidad 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 218 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 209 laboratorios (95,9%) afirmaron no haberlo utilizado, 2 centros (0,9%) sí lo requirieron, y los 7 restantes (3,2%) lo emplearon sólo parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (10 centros) se refería a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento sintomático (con reposición de líquidos). En caso de ser necesario, algunos participantes recomendaban la administración de cefalosporinas de 3ª generación o de cotrimoxazol. Cuatro participantes desaconsejaban el uso de ciprofloxacino al ser una paciente pediátrica.

Otros comentarios se referían al serotipado de la cepa. Hubo cuatro centros que manifestaron que dicha cepa pertenecía al serotipo O:8, mientras que otros cinco centros comentaron que era del serotipo O:3, y otros dos centros señalaron que no aglutinaba para los serotipos O:3 y O:9.

Por último, hubo tres centros que comentaron que las tarjetas VITEK® no discriminaba la *Y. enterocolitica* de *Y. frederiksenii*, y otros tres participantes señalaron que *Y. enterocolitica* era intrínsecamente resistente a las aminopenicilinas, carboxipenicilinas, combinaciones de aminopenicilinas con inhibidores, y cefalosporinas de primera y segunda generación.

Madrid, 20 de marzo de 2022



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.

B-4/21