

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-1/23

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 las muestras a través de ensayos realizados tras la preparación de los líofilos 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 un paciente varón de 67 años con antecedentes de hipertensión arterial, coleditiasis y cólicos biliares de repetición. Acudió a urgencias de su hospital de área por presentar un nuevo episodio de dolor en hipocondrio derecho de 24 horas de evolución, con fiebre, malestar general y vómitos. A la exploración física el paciente presentaba regular estado general, un abdomen doloroso a la palpación en hipocondrio derecho y signo de Murphy positivo. Presentaba fiebre termometrada de 38,4 °C. La analítica mostró una leucocitosis moderada con desviación izquierda y elevación de los enzimas de colestasis, con bilirrubina normal. La ecografía abdominal reveló la existencia de una coleditiasis y signos de colecistitis aguda. Se extrajeron hemocultivos seriados al paciente y se le pautó antibioterapia de amplio espectro, ingresando en el hospital hasta resolución del cuadro agudo y valoración de posible colecistectomía programada. A las 8 h de incubación creció en todos los frascos el 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 *Streptococcus gallolyticus* subsp. *pasteurianus*, también denominado *Streptococcus pasteurianus* (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-1/23

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución en caldo 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 estreptococos del grupo *viridans*.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 13.0-2023)	CLSI (M100S33-2023)
Penicilina	0,06	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Ampicilina	≤0,06	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Clindamicina	≤0,06	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Levofloxacino	1	Evidencia insuficiente	Sensible
Vancomicina	0,5	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Linezolid	2	Evidencia insuficiente	Sensible
Daptomicina	≤0,25	No interpretado	Sensible

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 236 centros inscritos en Bacteriología, de los que 224 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 94,9%, similar al del último control (91,5%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuestas válidas las siguientes identificaciones: *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* (*S. pasteurianus*), *S. gallolyticus*, *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus* y *Streptococcus bovis*. Como se puede observar en la tabla 2, la mayoría de los centros participantes (110, el 49,2%) identificaron la cepa como *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*, mientras que hubo 82 participantes que respondieron *S. gallolyticus*, otros 19 laboratorios (8,5%) contestaron *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, y 5 centros (2,3%) identificaron la cepa como *S. bovis*. Así, el porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 96,4% (216

laboratorios). Cabe destacar que alguna identificación incorrecta se corresponde a resultados cruzados con controles de bacteriología mensual remitidos al mismo tiempo.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Streptococcus gallolyticus</i> subsp. <i>pasteurianus</i>	110	49,2
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	82	36,6
<i>Streptococcus gallolyticus</i> subsp. <i>gallolyticus</i>	19	8,5
<i>Streptococcus bovis</i>	5	2,3
<i>Streptococcus mitis</i> / <i>S. oralis</i>	2	1,0
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0,4
Estreptococo grupo viridans	1	0,4
Género <i>Enterococcus</i>	1	0,4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	0,4
<i>Streptococcus mutans</i>	1	0,4
<i>Streptococcus salivarius</i>	1	0,4
Total	224	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 67,0% de los centros (150) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 122 (54,5%) la informaron como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 95 centros (42,4%) y como único método diagnóstico por el 25,9% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, fueron informadas por 13 laboratorios (5,8%), 2 de ellos (0,9%) de forma única. Hubo 3 centros (1,4%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para la identificación, uno de ellos por secuenciación de última generación. La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	122	54,5
Comercial	58	25,9
Comercial + espectrometría de masas	21	9,4
Manual + comercial	7	3,2
Comercial + aglutinación	3	1,4

Comercial + espectrometría de masas + aglutinación	2	0,9
Manual	2	0,9
Manual + comercial + espectrometría de masas	2	0,9
Manual + espectrometría de masas	2	0,9
Aglutinación	1	0,4
Comercial + inmunocromatografía	1	0,4
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,4
Secuenciación	1	0,4
Secuenciación de última generación (NGS)	1	0,4
Total	224	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (n= 101), seguido del MALDI-TOF de VITEK® MS (46 centros) de bioMérieux y de las tarjetas VITEK® 2 (45 centros), también de bioMérieux.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto ^a
MALDI-TOF (Bruker)	101	46,1	98,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	46	21,0	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	45	20,6	97,8
MicroScan (Beckman Coulter)	13	5,9	76,9
API® 20 STREP (bioMérieux)	9	4,1	100,0
BD Phoenix™	4	1,8	100,0
Rapid ID 32™ Strep (bioMérieux)	1	0,5	100,0
Total	219	100,0	97,3

^aSe han agrupado las identificaciones *S.gallolyticus* con sus dos subespecies, y *S. bovis*.

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 *S. gallolyticus*, con la única excepción del panel MicroScan, en el que el porcentaje de aciertos fue menor.

Tabla 5. Resultados de identificación de *S. gallolyticus* subsp. *Pasteurianu* scon los sistemas comerciales más empleados^a.

Sistema	Número	<i>S. gallolyticus</i> subsp. <i>pasteurianus</i>	<i>S. gallolyticus</i>	<i>S. gallolyticus</i> subsp. <i>gallolyticus</i>	Otras Identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	101	25 (24,8)	59 (58,4)	13 (12,9)	4(3,9) ^b
MALDI-TOF (VITEK® MS)	46	38 (82,6)	5 (10,9)	3 (6,5)	0
VITEK® 2 (bioMérieux)	45	30 (66,7)	11 (24,4)	3 (6,7)	1 (2,2) ^c
MicroScan (Beckman)	13	2 (15,3)	5 (38,5)	0	6 (46,2) ^d
API® 20 STREP	9	9 (100,0)	0	0	0
BD Phoenix™	4	3 (75,0)	1 (25,0)	0	0

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

^b*Streptococcus bovis*(2), *Staphylococcus epidermidis* (1), *Streptococcus salivarius* (1).

^c*Streptococcus mutans* (1).

^d*Streptococcus bovis* (3), *Streptococcus mitis* / *S. oralis* (2), *Burkholderia cepacia* (1).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 221 centros que realizaron una identificación mínima de género *Streptococcus*. De ellos, hubo 4 centros que no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 217 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 157 (72,4%), empleándose como método único en el 57,6% de los casos. La técnica de difusión en disco-placa fue realizada por 63 de los centros (29,0%), de los cuales un 7,4% fue de forma única. Hubo 56 laboratorios (25,8%) que utilizaron las tiras de gradiente de concentración, empleado de forma aislada por el 9,2% de los mismos. Por último, hubo 4 participantes (1,8%) que emplearon el método de concentraciones críticas, en un caso (0,5%) como único método. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	125	57,6
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	20	9,2
Tiras de gradiente de concentración	20	9,2
Microdilución + disco-placa	18	8,3
Disco-placa	16	7,4
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	8	3,7
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	6	2,7

Concentración crítica + disco-placa + tira de gradiente de concentración	2	0,9
Concentración crítica	1	0,5
Disco-placa + concentración crítica	1	0,5
Total	217	100,0

El análisis de un total de 181 respuestas mostró que los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (40,9%), seguidas de los paneles MicroScan de Beckman Coulter (37,0%) y de las tiras de Etest® de bioMérieux (12,7%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
VITEK® 2 (bioMérieux)	74	40,9
MicroScan (Beckman Coulter)	67	37,0
Etest® (bioMérieux)	23	12,7
MIC Test Strip (Liofilchem®)	8	4,4
BD Phoenix™	6	3,3
Sensititre™ (Thermo Fisher)	2	1,1
ATB™ STREP EU (08) (bioMérieux)	1	0,6
Total	181	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 217 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Streptococcus*, 206 (94,9%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 9 (4,2%) los del CLSI, mientras que hubo 2 laboratorios (0,9%) que utilizaron criterios de ambos comités. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Marca	Número	%
EUCAST	206	94,9
CLSI	9	4,2
CLSI + EUCAST	2	0,9
Total	217	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 46 antibióticos diferentes, pero tan solo 13 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/ SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Ampicilina	151	146 (96,7)	2 (1,3)	2 (1,3)	1 (0,7)	0
Cefotaxima	136	136 (100,0)	0	0	0	0
Ceftriaxona	83	81 (97,6)	0	1 (1,2)	1 (1,2)	0
Clindamicina	178	173 (97,2)	0	4 (2,2)	1 (0,6)	0
Eritromicina	83	70 (84,3)	2 (2,4)	2 (2,4)	3 (3,6)	6 (7,3)
Levofloxacino	93	32 (34,4)	36 (38,7)	7 (7,5)	6 (6,5)	12 (12,9)
Linezolid	95	83 (87,4)	0	0	4 (4,2)	8 (8,4)
Meropenem	39	39 (100,0)	0	0	0	0
Moxifloxacino	44	34 (77,3)	0	3 (6,8)	7 (15,9)	0
Penicilina	178	178 (100,0)	0	0	0	0
Teicoplanina	73	70 (95,8)	1 (1,4)	1 (1,4)	1 (1,4)	0
Tetraciclina	55	50 (90,9)	0	0	5 (9,1)	0
Vancomicina	196	196 (100,0)	0	0	0	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico. Abreviaturas: SDE (Sensible dosis estándar), SEI (Sensible con exposición incrementada), SDD (Sensible dosis dependiente).

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. Respecto al levofloxacin, en base a los dos laboratorios que actuaron como de referencia, la cepa presentaba una CMI de 1-2 µg/mL. Este valor de la CMI sería sensible según los criterios del CLSI (sensible ≤ 2 µg/mL), mientras que, la interpretación para EUCAST, sería de evidencia insuficiente independientemente del valor de la CMI obtenido.

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 224 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 208 laboratorios (92,8%) afirmaron no haberlo utilizado, 4 centros (1,8%) sí lo requirieron y los 12 restantes (5,4%) lo emplearon sólo de forma parcial.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (8 centros) se refería a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento combinado con penicilina asociada a gentamicina.

Siete centros comentaron que *S. gallolyticus* se asociaba a neoplasia de colon y a endocarditis, por lo que recomendaban al paciente la realización de una colonoscopia y de una ecocardiografía. Tres centros comentaron que la subespecie *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* se relacionaba con patología biliar. También hubo tres laboratorios que detectaron la subespecie de la cepa mediante una galería API® de estreptococo.

Otros tres centros comentaron que la cepa no presentaba una resistencia inducible a la clindamicina respecto a la eritromicina. Por último, 2 laboratorios señalaron que la CMI baja al moxifloxacin era indicativo que la cepa no poseía mecanismos de resistencia a las quinolonas.

Madrid, 22 de mayo de 2023



C/ Agustín de Betancourt, 13
Entreplanta - 28003 Madrid
NIF: G-78387057

B-1/23

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.