

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-3/23

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 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 varón de 61 años que presentaba una úlcera neuropática complicada de hacía 6 meses de evolución en la primera articulación metatarsofalángica, secundaria a un absceso plantar. Había recibido numerosos tratamientos antibióticos de amplio espectro, tanto durante sus estancias en el hospital como domiciliarios, pero la lesión presentaba una evolución tórpida. Tres semanas antes de la visita a la consulta había sido dado de alta tras permanecer ingresado durante dos semanas para desbridamiento quirúrgico y tratamiento antibiótico intravenoso debido a la mala evolución de la úlcera. Como antecedentes personales destacaban *diabetes mellitus* tipo 2, hipertensión arterial, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia y obesidad. No refería alergias medicamentosas conocidas. Inmediatamente, y en la misma consulta, se procedió a la limpieza de la lesión realizándose la exéresis de los fragmentos óseos rotos de la primera articulación metatarsofalángica, hasta alcanzar la zona más profunda. Una vez estuvo limpia la cavidad, se profundizó hasta la salida contralateral donde se colocó un drenaje tipo Penrose. Los fragmentos óseos más profundos fueron remitidos al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, creciendo a las 24 horas 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.

B-3/23

## VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Pseudomonas aeruginosa* (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 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 *P. aeruginosa* (CLSI) o *Pseudomonas spp* (EUCAST).

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 13.0-2023)	CLSI (M100S33-2023)
Amikacina	16	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Aztreonam	16	Sensible con exposición incrementada	Intermedio
Cefepima	16	Resistente	Intermedio
Ceftazidima	16	Resistente	Intermedio
Ceftazidima-avibactam	4	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Ceftolozano-tazobactam	≤1	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Ciprofloxacino	>2	Resistente	Resistente
Imipenem	>8	Resistente	Resistente
Meropenem	>8	Resistente	Resistente
Piperacilina-tazobactam	>64	Resistente	Resistente
Tobramicina	≤2	Sensible con dosificación estándar	Sensible

En base a los dos laboratorios utilizados para el valor asignado, la cepa de *P. aeruginosa* remitida presentaba como característica especial el ser una cepa multirresistente, no productora de carbapenemasa.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 236 centros inscritos en Bacteriología, de los que 223 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 94,5%, similar al del último control (95,3%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*P. aeruginosa*). Como se puede observar en la tabla 2, todos los centros participantes excepto uno (222, el 99,6%) identificaron correctamente la especie de la cepa control. La identificación incorrecta se correspondía a un resultado cruzado con un control de bacteriología mensual remitido al mismo tiempo.

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

Identificación	Número	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	222	99,6
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	0,4
Total	223	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 60,1% de los centros (134) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 114 (51,2%) fue como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 102 centros (45,7%) y como único método diagnóstico por el 32,8% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, se informaron por 12 laboratorios (5,4%), uno de ellos (0,4%) de forma única. Hubo 2 centros (0,9%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa, uno de ellos mediante secuenciación de última generación. Por último, hubo un centro (0,4%) que no informó de esta premisa. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 3.

**Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.**

Método	Número	%
Espectrometría de masas	114	51,2
Comercial	73	32,8
Comercial + espectrometría de masas	15	6,8
Manual + comercial	7	3,1
Comercial + inmunocromatografía	5	2,3

Manual + espectrometría de masas	3	1,4
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,4
Manual	1	0,4
Manual + comercial + espectrometría de masas	1	0,4
Secuenciación	1	0,4
Secuenciación de última generación (NGS)	1	0,4
No informa	1	0,4
Total	223	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (86 centros), seguido del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux y del MicroScan de Beckman (45 centros cada uno), obteniendo todos ellos un excelente índice de aciertos.

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	86	39,3	98,8 <sup>a</sup>
MALDI-TOF (VITEK® MS)	45	20,5	100,0
MicroScan (Beckman Coulter)	45	20,5	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	40	18,3	100,0
BD Phoenix™	2	0,9	100,0
API® 20 NE (bioMérieux)	1	0,5	100,0
Total	219	100,0	99,5

<sup>a</sup>El resultado discrepante corresponde a una respuesta cruzada con un control mensual.

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 222 centros que realizaron la identificación de *P. aeruginosa*. Cuatro de ellos no efectuaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 218 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 213 (97,7%), empleándose como método único en el 69,7% de los mismos. Hubo 50 laboratorios (22,9%) que utilizaron las tiras de gradiente de concentración, en 2 casos (0,9%) como único método.

Por último, la técnica de difusión en disco-placa fue empleada por 29 laboratorios (13,3%), de los que 2 (0,9%) lo hicieron de forma única. Todos estos datos se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución	152	69,7
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	35	16,1
Microdilución + disco-placa	14	6,4
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	12	5,5
Disco-placa	2	0,9
Tiras de gradiente de concentración	2	0,9
Disco-placa+ tiras de gradiente de concentración	1	0,5
Total	218	100,0

El análisis de un total de 214 respuestas mostró que los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron los paneles MicroScan de Beckman (50,5%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (43,9%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma**

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	108	50,5
VITEK® 2 (bioMérieux)	94	43,9
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	7	3,3
Etest® (bioMérieux)	3	1,4
Sensititre™ (Thermo Fisher)	2	0,9
Total	214	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 218 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación de *P. aeruginosa*, 202 (92,7%) utilizaron los criterios del EUCAST, mientras que hubo otros 10 laboratorios (4,6%) que emplearon los criterios del CLSI y los 6 laboratorios restantes (2,7%) utilizaron criterios de ambos comités. Estos datos se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.**

Marca	Número	%
EUCAST	202	92,7
CLSI	10	4,6
CLSI + EUCAST	6	2,7
Total	218	100,0

En la tabla 8 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 43 antibióticos diferentes, pero tan solo 14 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 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Nº	Categorización <sup>a</sup>				
		Sensible/ SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	192	182 (94,8)	3 (1,6)	6 (3,1)	1 (0,5)	0
Aztreonam	152	4 (2,6)	70 (46,1)	78 (51,3)	0	0
Cefepima	192	1 (0,5)	6 (3,1)	185 (96,4)	0	0
Ceftazidima	215	1 (0,5)	5 (2,3)	209 (97,2)	0	0
Ceftazidima-avibactam	120	115 (95,8)	0	5 (4,2)	0	0
Ceftolozano-tazobactam	173	170 (98,3)	1 (0,6)	2 (1,1)	0	0
Ciprofloxacino	203	0	1 (0,5)	202 (99,5)	0	0
Colistina	170	151 (88,8)	4 (2,4)	13 (7,6)	2 (1,2)	0

Gentamicina	78	55 (70,5)	1 (1,3)	18 (23,1)	1 (1,3)	3 (3,8)
Imipenem	196	1 (0,5)	1 (0,5)	194 (99,0)	0	0
Levofloxacino	128	0	0	128 (100,0)	0	0
Meropenem	206	1 (0,5)	1 (0,5)	204 (99,0)	0	0
Piperacilina-tazobactam	205	1 (0,5)	1 (0,5)	203 (99,0)	0	0
Tobramicina	193	181 (93,8)	1 (0,5)	10 (5,2)	1 (0,5)	0

<sup>a</sup>Los 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 la única excepción del aztreonam en las que se observó una moderada discrepancia entre los centros. En base a los dos laboratorios que actuaron como de referencia, la cepa presentaba una CMI al aztreonam de 16µg/mL, que se interpretaría como sensible con exposición incrementada según EUCAST e intermedio para CLSI. Sin embargo, con una dilución superior, la cepa ya sería resistente en ambos casos.

### CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Como ya se ha mencionado, la cepa de *P. aeruginosa* remitida era multiresistente, no productora de carbapenemasa. De los 218 participantes con la identificación de *P. aeruginosa* que realizaron antibiograma, 120(55,0%) realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa. El conjunto de los comentarios efectuados se ha resumido en la tabla 9.

Los comentarios más frecuentes fueron que la cepa no era productora de carbapenemasa (44 centros, el 20,2%), que la cepa era multiresistente sin ser productora de carbapenemasa (34 centros, el 15,6%) y que la cepa era multiresistente (30 centros, el 13,7%).

**Tabla 9. Detección de la característica fenotípica especial.**

Marca	Número	%
Cepano productora de carbapenemasa	44	20,2
Cepa multiresistente (o extremadamente resistente), no productora de carbapenemasa	34	15,6
Cepa multiresistente / extremadamente resistente	30	13,7
Cepa productora de cefalosporinasa de alto nivel + alteración permeabilidad	6	2,8
Cepa resistente a las carbapenemas	4	1,8
Cepa productora de VIM	2	0,9

No informan	98	45,0
Total	218	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 223 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 221 laboratorios (99,2%) afirmaron no haberlo utilizado, hubo 1 centro (0,4%) que sí lo requirió y el centro restante (0,4%) lo empleó sólo de forma parcial.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, los principales comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas (n=4), principalmente con ceftolozano-tazobactam. Por último, dos centros recomendaron el aislamiento del paciente.

Madrid, 29 de noviembre de 2023



  
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.

B-3/23



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.