

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B423

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 líoilo 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 la de un paciente de 67 años que se encontraba ingresado en la Unidad de Cuidados Intensivos por un traumatismo abdominal grave a consecuencia de un accidente. A los 7 días de la intervención e ingreso en UCI, el paciente, que se encontraba bajo sedación, con ventilación mecánica y con tratamiento antibiótico empírico por sospecha de neumonía nosocomial, sufrió un acusado deterioro de su estado, con empeoramiento de los parámetros respiratorios y pico febril de 39,8°C. En la analítica destacaban una leucocitosis de 17.200 x mm³ y una proteína C reactiva de 12,4 mg/dL. Se tomaron muestras de hemocultivo y de broncoaspirado que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y micológico, creciendo en todas ellas a las 24 h de incubación la cepa 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 *Enterobacter cloacae* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante secuenciación de última generación.

B423

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución complementado con disco-placa y 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 al orden de los Enterobacterales.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 14.0-2024)	CLSI (M100S33-2023)
Amikacina	≤4	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Amoxicilina-clavulanato	>64	Resistente	No interpretado
Ampicilina		Resistente	Resistente
Aztreonam	32	Resistente	Resistente
Cefepima	12	Resistente	Resistente
Cefotaxima	>8	Resistente	Resistente
Cefuroxima		No interpretado	Resistente
Ciprofloxacino	≤0,06	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Colistina	0,5	Sensible con dosificación estándar	Intermedio
Cotrimoxazol	>8	Resistente	Resistente
Gentamicina	≤0,5	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Imipenem	8	Resistente	Resistente
Piperacilina-tazobactam	32	Resistente	Resistente
Tobramicina	4	Resistente	Intermedio

En base a los dos laboratorios utilizados para el valor asignado, la cepa de *E. cloacae* remitida presentaba como característica especial el ser portadora de la meta- β -lactamasa (MBL) VIM-1. Adicionalmente, esta cepa también era portadora de la β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) SHV-12.

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%, idéntico al del último control (94,5%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuestas válidas la identificación de complejo *E. cloacae*, así como la de cualquier especie incluida dentro de este complejo, además de *Enterobacter bugandensis*, ya que muchos sistemas comerciales no son capaces de discriminar adecuadamente entre estas especies.

Como se puede observar en la tabla 2, hubo 97 centros (el 43,5%) que identificaron la cepa como *E. cloacae*, mientras que 82 centros (36,8%) respondieron *E. cloacae* complex y otros 39 centros (17,5%) encuadraron la cepa remitida dentro de otra especie del género *Enterobacter*. Así, el porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 97,8% (218 laboratorios). Cabe destacar que algunas identificaciones incorrectas se corresponden a resultados cruzados con controles de bacteriología mensual remitidos al mismo tiempo.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Enterobacter cloacae</i>	97	43,5
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	82	36,8
<i>Enterobacter hormaechei</i>	36	16,1
<i>Enterobacter kobei</i>	2	0,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	0,8
<i>Enterobacter bugandensis</i>	1	0,5
<i>Escherichia coli</i>	1	0,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,5
<i>Streptococcus anginosus</i>	1	0,5
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 en 110 (49,4%) fue como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 102 centros (el 45,7%) y como único método diagnóstico por el 30,5% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, se informaron por 8 laboratorios (3,6%), en todos los casos empleadas con otro método. Por último, hubo 3 centros (1,3%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa, uno de ellos mediante secuenciación de última generación. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	110	49,4
Comercial	68	30,5
Comercial + espectrometría de masas	14	6,3
Comercial + inmunocromatografía	10	4,5
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	7	3,2
Manual + comercial	5	2,3
Comercial + inmunocromatografía + PCR	2	0,9
Manual + comercial + espectrometría de masas	2	0,9
Aglutinación	1	0,4
Comercial + secuenciación	1	0,4
Manual + espectrometría de masas	1	0,4
Secuenciación	1	0,4
Secuenciación de última generación (NGS)	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 (89 centros), seguido del MALDI-TOF VITEK® MS y de las tarjetas VITEK® 2, ambos de bioMérieux (43 centros cada uno), y del MicroScan de Beckman (42 centros), obteniendo todos ellos un excelente índice de aciertos. Como ya se ha comentado, todos los errores en la identificación han ocurrido por respuestas cruzadas con otras cepas remitidas al mismo tiempo del Programa de Control de Calidad.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto ^a
MALDI-TOF (Bruker)	89	40,5	98,9
MALDI-TOF (VITEK® MS)	43	19,5	97,7
VITEK® 2 (bioMérieux)	43	19,5	95,3
MicroScan (Beckman Coulter)	42	19,0	100,0
API® 20 E (bioMérieux)	1	0,5	100,0
BD Phoenix™	1	0,5	0,0
RapID™ ONE (Remel, Thermo Scientific)	1	0,5	100,0
Total	220	100,0	97,7

^aPorcentaje de aciertos de los centros que han identificado alguna especie del género *Enterobacter*.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a todos los 218 centros que realizaron la identificación mínima de género *Enterobacter*. De ellos, hubo un centro que no realizó el estudio de sensibilidad, mientras que otro centro no introdujo ningún antibiótico en la nueva aplicación, por lo que se analizaron un total de 216 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 212 (98,1%), empleándose como método único en el 67,1% de los mismos. Hubo 52 laboratorios (24,1%) que utilizaron las tiras de gradiente de concentración, en todos los casos combinadas con otro método. Por último, la técnica de difusión en disco-placa fue empleada por 48 laboratorios (22,2%), 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	145	67,1
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	27	12,5
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	23	10,7
Microdilución + disco-placa	17	7,9
Disco-placa	2	0,9
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	2	0,9
Total	216	100,0

El análisis de un total de 210 respuestas mostró que los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron los paneles MicroScan de Beckman (53,8%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (42,4%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	113	53,8
VITEK® 2 (bioMérieux)	89	42,4
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	6	2,8
Etest® (bioMérieux)	1	0,5
Sensititre™ (Thermo Fisher)	1	0,5
Total	210	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 216 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Enterobacter*, hubo 205 centros (94,9%) que utilizaron los criterios del EUCAST, mientras que otros 10 laboratorios (4,6%) emplearon los criterios del CLSI y el laboratorio restante (0,5%) utilizó 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	205	94,9
CLSI	10	4,6
CLSI + EUCAST	1	0,5
Total	216	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, de los que 25 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 ^a				
		Sensible/ SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Ampicilina	128	0	0	127 (99,2)	1 (0,8)	0
Amoxicilina-clavulanato	170	0	0	170 (100,0)	0	0
Piperacilina-tazobactam	184	0	0	184 (100,0)	0	0
Cefuroxima	83	1 (1,2)	0	81 (97,6)	1 (1,2)	0
Cefoxitina	31	0	0	30 (96,8)	1 (3,2)	0
Cefotaxima	121	0	0	121 (100,0)	0	0
Ceftriaxona	58	0	0	58 (100,0)	0	0
Ceftazidima	146	0	0	146 (100,0)	0	0
Ceftazidima-avibactam	123	2 (1,6)	0	121 (98,4)	0	0
Ceftolozano-tazobactam	100	0	0	100 (100,0)	0	0
Cefepima	168	0	7 (4,2)	161 (95,8)	0	0
Cefiderocol	48	30 (62,5)	0	17 (35,4)	1 (2,1)	0
Aztreonam	122	0	1 (0,8)	121 (99,2)	0	0
Ertapenem	163	31 (19,0)	6 (3,7)	124 (76,1)	2 (1,2)	0
Imipenem	145	1 (0,7)	13 (9,0)	131 (90,3)	0	0
Meropenem	195	43 (22,1)	63 (32,3)	89 (45,6)	0	0
Gentamicina	198	193 (97,5)	0	5 (2,5)	0	0
Tobramicina	110	5 (4,6)	2 (1,8)	103 (93,6)	0	0
Amikacina	182	167 (91,8)	11 (6,0)	4 (2,2)	0	0
Ciprofloxacino	207	206 (99,5)	1 (0,5)	0	0	0
Levofloxacino	101	99 (98,0)	1 (1,0)	1 (1,0)	0	0
Cotrimoxazol	173	4 (2,3)	0	168 (97,1)	1 (0,6)	0
Tigeciclina	72	62 (86,1)	1 (1,4)	2 (2,8)	7 (9,7)	0

Fosfomicina	88	82 (93,2)	0	0	5 (5,7)	1 (1,1)
Colistina	68	62 (91,2)	2 (2,9)	3 (4,4)	1 (1,5)	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.

CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Como ya se ha mencionado, la cepa de *E. cloacae* remitida era productora de MBL de tipo VIM-1, así como de la BLEE SHV-12. De los 218 participantes con la identificación mínima de género *Enterobacter*, 184 (84,4%) 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 era productora de VIM (147 centros, el 67,4%), que era productora de VIM más BLEE (14 centros, el 6,5%), o bien que era productora de VIM más SHV (7 centros, el 3,2%).

Tabla 9. Detección de la característica fenotípica especial.

Marca	Número	%
Cepa productora de VIM	147	67,4
Cepa productora de VIM + BLEE	14	6,5
Cepa productora de VIM + SHV	7	3,2
Cepa productora de carbapenemasa	6	2,8
Cepa productora de AmpC	3	1,4
Cepa productora de BLEE + carbapenemasa	3	1,4
Cepa productora de OXA-48	2	0,9
Cepa multirresistente	1	0,4
Cepa productora de BLEE + hiperproducción de AmpC	1	0,4
No informa	34	15,6
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: 217 laboratorios (97,3%) afirmaron no haberlo utilizado, 1 centro (0,5%) declaró el haberlo requerido y los 5 centros restantes (2,2%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, el comentario mayoritario (26 centros) se refería a que la cepa presentaba sinergia entre el aztreonam y la ceftazidima/avibactam, por lo que aconsejaban el tratamiento combinado con estos antimicrobianos. Así mismo, 5 centros señalaron que no se aconsejaban la administración de carbapenemas al paciente.

Por último, 2 centros recomendaron el aislamiento del paciente.

Madrid, 13 de marzo de 2024



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.

B423

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.