

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL (B- 1/16)

En el Análisis de Resultados del presente control se analizan 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 la muestra a través de ensayos realizados tras la preparación de los líofilos y tras su envío, asegurando así la validez de la misma.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, quienes 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 29 años de edad, VIH positivo con un recuento de 89 CD4/mm<sup>3</sup>, que acudía a puertas de urgencias por presentar durante las últimas 48 horas deterioro de su estado general y fiebre de hasta 38,5°C acompañada de sudor frío y escalofríos. Hacía unos 10 días había sido hospitalizado por presentar un cuadro de enterocolitis por *Clostridium difficile* e infección de tejidos blandos por *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina. No presentaba adherencia adecuada al tratamiento antirretroviral. A la exploración, presentaba regular estado general, fiebre de 39,1°C y TA de 100/58; la palpación abdominal mostraba un abdomen distendido, con aumento de ruidos intestinales, pero sin masas ni megalias. La herida que presentaba días atrás mostraba de nuevo supuración sero-sanguinolenta, con un aspecto eritematoso y edematoso. Se decidió el ingreso del paciente para reiniciar tratamiento con metronidazol y tratamiento de la infección de tejidos blandos. Se tomó muestra del exudado de la lesión y se tomaron 2 muestras de hemocultivo que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de hongos. A las 48 h de incubación, creció en uno de los frascos de ambas tomas de hemocultivo 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 y terapéuticos que se estimasen oportunos.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entreplanta. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

## VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Clostridium innocuum* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF, Bruker) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos por tiras de gradiente de concentración (MIC Test Strip, Liofilchem) 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. Se emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes a bacterias anaerobias para la interpretación de los resultados.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		CLSI	EUCAST
Penicilina	0,25	S	S
Ampicilina	0,125	S	S
Piperacilina-tazobactam	0,38	S	S
Meropenem	0,5	S	S
Clindamicina	>256	R	R
Metronidazol	0,125	S	S
Moxifloxacino	0,75	S	NI

<sup>a</sup>S: sensible, R: resistente, NI: no interpreta.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 230 centros inscritos en Bacteriología, de los que 203 remitieron hoja de respuesta. Ocho centros no informaron ninguna identificación, por lo que hubo 195 respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 84,8%, inferior al del último control de Bacteriología (91,1%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta óptima la identificación correcta de género y especie (*C. innocuum*), y como respuesta aceptable la de cualquier especie perteneciente al género *Clostridium*. Como se puede observar en la tabla 2, la mayoría de los centros (64,1%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control, mientras que el 9,2% informaron género *Clostridium*, y el 12,8% informaron otra especie perteneciente a dicho género. Así, un 86,2% de los participantes informaron la cepa dentro del género *Clostridium*.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

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

<b>Identificación</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
<i>Clostridium innocuum</i>	125	64,1
Género <i>Clostridium</i>	18	9,2
<i>Clostridium bifermentans</i>	12	6,2
<i>Escherichia coli</i>	5	2,6
<i>Clostridium subterminale</i>	4	2,1
Bacilo anaerobio	3	1,6
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	3	1,6
<i>Fusobacterium varium</i>	3	1,6
<i>Clostridium sordellii</i>	2	1,0
<i>Clostridium sporogenes</i>	2	1,0
<i>Actinobacillus rossii</i>	1	0,5
<i>Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans</i>	1	0,5
Bacilo gramnegativo anaerobio	1	0,5
Bacilo grampositivo	1	0,5
<i>Bacteroides fragilis</i>	1	0,5
<i>Clostridium difficile</i>	1	0,5
<i>Clostridium novyi</i>	1	0,5
<i>Clostridium perfringens</i>	1	0,5
<i>Clostridium ramosum</i>	1	0,5
<i>Clostridium tertium</i>	1	0,5
<i>Eggerthella lenta</i>	1	0,5
<i>Eubacterium limosum</i>	1	0,5
Género <i>Bacteroides</i>	1	0,5
<i>Prevotella bivia</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus warneri</i>	1	0,5
<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	1	0,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	0,5
Total	195	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 59,5% de los centros (116), emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, 87 de ellos (44,6%) las usaron como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por el 41,0% de los participantes, y como único método diagnóstico en el 33,3% de las ocasiones. Las pruebas manuales fueron usadas por 20 laboratorios (10,3%), en 8 de ellos (4,1%) de forma única. Por último, 6

laboratorios (3,1%) identificaron la cepa mediante un estudio de secuenciación. Hubo 3 participantes (1,6%) que no aportaron información de esta premisa. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

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

<b>Método</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
Comercial	87	44,6
Espectrometría de masas	65	33,3
Comercial + espectrometría de masas	15	7,7
Manual + comercial	10	5,1
Manual	8	4,1
Comercial + secuenciación	3	1,6
Manual + secuenciación	2	1,0
Comercial + aglutinación	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	3	1,6
<b>Total</b>	<b>195</b>	<b>100,0</b>

Los sistemas comerciales utilizados en la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (64 centros), seguido del VITEK® 2 (44 centros) y de la galería API® 20 A (31).

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

<b>Marca comercial</b>	<b>Número</b>	<b>% uso</b>	<b>% acierto</b>
MALDI-TOF (Bruker)	64	35,4	98,5
VITEK® 2	44	24,3	40,9
Galerías API®			
API® 20 A	31	17,2	74,2
rapid ID 32™ A	15	8,2	40,0
API® 20 E	1	0,6	0,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	10	5,5	30,0
BBL™ Crystal™	5	2,8	60,0
MicroScan	5	2,8	20,0
RapID™ ANA II (ThermoFisher)	2	1,1	50,0
Phoenix™	1	0,5	0,0
No especifica el sistema	3	1,6	33,3
<b>Total</b>	<b>181</b>	<b>100,0</b>	<b>66,1</b>

La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Los mejores resultados se obtuvieron con el MALDI-TOF de Bruker (98,5% de aciertos) seguido de la galería

API® 20 A (74,2%). El resto de los sistemas obtuvieron un bajo porcentaje de identificaciones correctas de género o especie.

**Tabla 5. Resultados de identificación de *C. innocuum* con los sistemas mayoritarios.**

Sistema	Número usuarios	<i>C. innocuum</i>	Género <i>Clostridium</i>	Otras especies de <i>Clostridium</i>	Otras especies
MALDI-TOF (Bruker)	64	63 (98,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,5)
VITEK® 2	44	18 (40,9)	5 (11,4)	16 (36,3)	5 (11,4)
API® 20 A	31	23 (74,2)	5 (16,1)	1 (3,2)	2 (6,5)
rapid ID 32™ A	15	6 (40,0)	2 (13,3)	3 (20,0)	4 (26,7)
MALDI-TOF (Vitek® MS)	10	3 (30,0)	1 (10,0)	1 (10,0)	5 (50,0)
BBL™ Crystal™	5	3 (60,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	0 (0,0)
MicroScan	5	1 (20,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (80,0)

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 168 centros que realizaron una identificación mínima de género *Clostridium*. De ellos, 31 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 137 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante tiras de gradiente de concentración fue de 80 (58,4%), empleándose como método único en el 43,8% de los casos. Hubo 52 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (38,0%), de los que 34 (24,8%) lo hicieron de forma única. Respecto al método de la concentración crítica, fue utilizado por 19 participantes (13,9%), mientras que 11 laboratorios (8,0%) utilizaron una técnica de microdilución en caldo (tabla 6).

**Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Tiras de gradiente de concentración	60	43,8
Disco-placa	34	24,8
Concentración crítica	15	11,0
Disco-placa + tiras gradiente concentración	13	9,5
Microdilución	6	4,4
Microdilución + tiras gradiente concentración	3	2,2
Concentración crítica + disco-placa + tiras gradiente concentración	2	1,5
Concentración crítica + tiras gradiente concentración	1	0,7
Disco-placa + concentración crítica	1	0,7
Microdilución + disco-placa	1	0,7
Microdilución + disco-placa + tiras gradiente concentración	1	0,7
Total	137	100,0

Sobre un total de 106 respuestas, los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron las tiras de gradiente de concentración, la microdilución y las concentraciones críticas. Las tiras de E-test® bioMérieux se emplearon por el 61,3%, la galería ATB™ ANA (bioMérieux) por al 17,9%, y las tiras MIC test Strip de Liofilchem por el 6,6%. El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

**Tabla 7. Marcas empleadas para la obtención de la CMI.**

Marca	Número	%
E-test® (bioMérieux)	65	61,3
ATB™ ANA (bioMérieux)	19	17,9
MIC test Strip (Liofilchem)	7	6,6
Sensititre™ (Thermo Scientific)	3	2,8
Preparación propia	1	1,0
No informan	11	10,4
Total	106	100,0

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes que categorizaran el valor obtenido en el antibiograma (halo inhibición o CMI) y, en el caso de que quisieran realizar una lectura interpretada de los resultados para alguno de los antibióticos, que ésta la consignaran en el apartado de comentarios y no en la tabla de respuesta. Además, habían que informar de los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma.

Así, de los 137 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Clostridium*, 65 (47,5%) emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), 53 (38,7%) los del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), 8 (5,8%) según la bibliografía, mientras que hubo 7 laboratorios (5,1%) que utilizaron ambos criterios (CLSI y EUCAST). Por último, hubo 1 laboratorio (0,7%) que se basó en los criterios de la SFM (*Société Française de Microbiologie*), mientras que otros 3 centros (2,2%) no aportaron información al respecto. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Criterio	Número	%
CLSI	65	47,5
EUCAST	53	38,7
Bibliografía	8	5,8
CLSI + EUCAST	7	5,1
SFM	1	0,7
No informan	3	2,2
Total	137	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 recibieron resultados correspondientes a 40 antibióticos diferentes, aunque en la tabla tan solo se muestran 8, que fueron los informados por un mínimo de 30 participantes.

**Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Número	Categorización <sup>a</sup>			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Penicilina	111	86 (77,5)	14 (12,6)	11 (9,9)	0
Amoxicilina-clavulanato	125	124 (99,2)	0	1 (0,8)	0
Piperacilina-tazobactam	74	74 (100,0)	0	0	0
Cefoxitina	58	6 (10,4)	1 (1,7)	50 (86,2)	1 (1,7)
Imipenem	99	95 (96,0)	2 (2,0)	2 (2,0)	0
Clindamicina	128	6 (4,7)	1 (0,8)	121 (94,5)	0
Metronidazol	123	116 (94,3)	0	6 (4,9)	1 (0,8)
Vancomicina	58	22 (37,9)	5 (8,6)	30 (51,7)	1 (1,7)

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

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 todos los casos los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente) fueron considerados como no aceptables por parte del Programa CCS.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado para la mayoría de los antibióticos. Las principales discrepancias se obtuvieron con la penicilina y la vancomicina. En cuanto a la penicilina, bastantes laboratorios obtuvieron una CMI entre 0,25 µg/mL (sensible según CLSI y EUCAST) y 0,5 µg/mL (aún sensible según CLSI, pero con sensibilidad intermedia según EUCAST). Respecto a la vancomicina, las discrepancias pueden estar en relación a la resistencia intrínseca de *C. innocuum*.

## 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 195 participantes que enviaron hoja de respuesta se obtuvieron los siguientes datos: 166 laboratorios (85,1%) afirmaron no haberlo utilizado, 11 centros (5,6%) declararon haberlo requerido y otros 18 centros (9,3%) lo utilizaron parcialmente.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Algunos centros (23) especificaron en sus comentarios que *C. innocuum* era intrínsecamente resistente a la vancomicina y, muy frecuentemente, también a la clindamicina. Ocho centros comentaron que con algunos sistemas comerciales (como las tarjetas VITEK® 2, las galerías API® o el VITEK® MS) no habían podido llegar a la identificación de especie.

Siete centros explicaron la dificultad de crecimiento de la cepa, por lo que no habían podido realizar el antibiograma, mientras que otros cuatro especificaron en sus comentarios que habían realizado un antibiograma orientativo con disco-placa.

Otros comentarios mayoritarios fueron acerca de las recomendaciones terapéuticas (5 centros), principalmente la administración de metronidazol.

Madrid, 20 de febrero de 2017

### **El Coordinador del Programa de Control de Calidad SEIMC**

**Nota:** si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.