

Procedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de
Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica



51

Preparación de informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos

Editores

Emilia Cercenado Mansilla
Rafael Cantón Moreno

Coordinador

Luis Martínez Martínez

Autores

Jorge Calvo Montes
Andrés Canut Blasco
Luis Martínez Martínez
José Carlos Rodríguez Díaz



ISBN: 978-84-617-1842-9

EDITORES:

Emilia Cercenado Mansilla. Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Rafael Cantón Moreno, Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal e Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS). Madrid.

SUGERENCIA DE CITACIÓN:

Calvo Montes J, Canut Blasco A, Martínez-Martínez L, Rodríguez Díaz JC. Preparación de informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos. 51. Martínez-Martínez L (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 2014.

AVISO:

Reservados todos los derechos. Los documentos SEIMC o cualquiera de sus partes no podrán ser reproducidos, almacenados, transmitidos, distribuidos, comunicados públicamente o transformados mediante ningún medio o sistema sin la previa autorización de sus responsables, salvo excepción prevista por la ley. Cualquier publicación secundaria debe referenciarse incluyendo “Este documento ha sido elaborado por la SEIMC (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica) y su contenido puede encontrarse en la página web www.seimc.org”

Procedimientos en Microbiología Clínica

Preparación de informes acumulados de
sensibilidad a los antimicrobianos

Editores:

Emília Cercenado Mansilla
Rafael Cantón Moreno

51. PREPARACIÓN DE INFORMES ACUMULADOS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS. **2014**

Coordinador:

Luís Martínez Martínez

Autores:

Jorge Calvo Montes¹
Andrés Canut Blasco²
Luis Martínez Martínez^{1,3}
José Carlos Rodríguez Díaz⁴



¹Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IDIVAL, Santander, ²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Álava, Vitoria, ³Departamento de Biología Molecular, Universidad de Cantabria, Santander, ⁴Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Alicante, Alicante.

ÍNDICE DEL DOCUMENTO CIENTÍFICO

| | | |
|----|---|----|
| 1. | Introducción..... | 5 |
| 2. | Aspectos generales para la preparación del informe acumulado de antibiograma..... | 6 |
| 3. | Exportación de datos de antibiograma | 9 |
| 4. | Preparación del informe de datos acumulados de antibiograma | 9 |
| 5. | Aspectos estadísticos del informe acumulado de antibiograma | 11 |
| 6. | Utilización del informe acumulado de antibiograma | 11 |
| 7. | Bibliografía..... | 12 |

DOCUMENTOS TÉCNICOS

1. PNT-IASA-01. Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos
2. PNT-IASA-02. Métodos estadísticos aplicados en el informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos

1. INTRODUCCION

Una de las actividades fundamentales en los servicios y unidades de Microbiología Clínica es la realización de estudios de sensibilidad (antibiograma), encaminados, en primer lugar, a guiar las opciones terapéuticas en los pacientes infectados. Además, el análisis conjunto de los datos procedentes de múltiples microorganismos (y pacientes) durante un determinado periodo es de gran valor epidemiológico y clínico, pues permite conocer variaciones en las tendencias de sensibilidad a los antimicrobianos y resulta de gran ayuda en la selección de los tratamientos empíricos. Por estas razones, la preparación de informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos debe ser una actividad que también se debe llevar a cabo por parte del microbiólogo clínico.

Se dispone de diversas herramientas informáticas que pueden adaptarse a la(s) metodología(s) empleada(s) en cada centro para la realización de antibiogramas. En España, y en muchos otros países de nuestro entorno geográfico y científico, son muy habituales los sistemas automáticos de antibiograma, que frecuentemente ya disponen de programas informáticos que permiten la planificación de informes acumulados de sensibilidad. Aun así, los sistemas automáticos prácticamente siempre necesitan complementarse con otras técnicas (difusión con disco, difusión en gradiente y más raramente métodos de referencia de dilución en caldo o en agar), que también se usan de forma primaria en algunos centros, y cuyos resultados pueden evaluarse con el apoyo del sistema de información del laboratorio (SIL) empleado en cada centro, al cual también se pueden volcar los datos obtenidos en los sistemas automáticos. Se dispone, igualmente, de diferentes programas de libre acceso, como el de WHONET (<http://www.who.int/drugresistance/whonetsoftware/en>) que permite interaccionar con sistemas automáticos empleando vínculos de enlace externos (*backlink*). SaTScan (<http://www.satscan.org>), es también un programa de libre acceso, gracias al cual se pueden analizar estadísticamente datos espaciales y temporales con los que definir grupos de microorganismos que pueden estar implicados en una epidemia.

Los informes acumulados de sensibilidad pueden cubrir datos obtenidos a nivel local, pero dado el interés creciente de las autoridades y responsables de salud pública por obtener información sobre resistencia a los antimicrobianos, existen diversas experiencias de integración de la información procedente de múltiples

servicios/unidades en una base de datos común que permite la explotación de esos datos a nivel regional, nacional o supranacional.

En nuestro país, la experiencia regional más avanzada es la de la Red de Vigilancia Microbiológica de la Comunidad Valenciana (RedMIVA), con cuya información se han dado a conocer en diferentes publicaciones, entre otras, la que recoge datos relacionados con la sensibilidad de *Escherichia coli* analizados en función de diversos parámetros (género, edad, tipo de muestra clínica, etc.).

Por otra parte, diversas sociedades científicas y grupos de investigación (incluyendo la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, SEIMC, www.seimc.org, y sus grupos de estudio, así como la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa, REIPI, (www.reipi.org) también están promoviendo el desarrollo de estudios multicéntricos nacionales sobre tendencias de sensibilidad y análisis de mecanismos de resistencia (en ocasiones con detallados análisis moleculares de los mismos). Es posible que a corto plazo y como parte de un plan estratégico nacional para el control de la resistencia a los antimicrobianos pueda desarrollarse un programa estatal de vigilancia de la resistencia.

Varios países en Europa han desarrollado con financiación pública programas para la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos (y en ocasiones también de consumo de estos agentes). Tal es el caso de Dinamarca (DANMAP, www.danmap.org), Países Bajos (NETHMAP, accesible en www.swab.nl), Finlandia (FiRe) o Suecia (SWEDRES). Iniciativas similares (pero con una cobertura que no siempre abarca una parte significativa del país o referida a uno o unos pocos microorganismos concretos) se han desarrollado también en otros países europeos así como en EE.UU., Canadá, China, Corea, Tailandia, Singapur, Australia, entre otros.

A nivel supranacional también existen iniciativas para la vigilancia de la resistencia subvencionadas con fondos públicos que se apoyan en el análisis de los datos proporcionados por múltiples centros. La organización de estas bases de datos internacionales es muy compleja y sufre diversos problemas, en especial los relacionados con la estandarización de los métodos de antibiograma, los puntos de corte utilizados para la interpretación de los resultados obtenidos como categorías clínicas (sensible, intermedio o resistente) y la variable representación de cada país en el conjunto de la base de datos como consecuencia

del número de centros que voluntariamente participan. La red europea de vigilancia de resistencia a los antimicrobianos (*European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*; EARS-Net, <http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARSNet/database/Pages/database.aspx>) es probablemente la base de datos supranacional más importante en este ámbito. En la misma se recoge información de unos 1.400 hospitales (que atiende en torno a los 100 millones de habitantes) procedente de múltiples redes nacionales que envían su información al *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC, <http://www.ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>). La base de datos abarca ocho microorganismos (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, y más recientemente *Acinetobacter baumannii*) causantes de infecciones invasivas, para los que se dispone de información comparativa de más de 400.000 aislados obtenidos desde 1999. Un consorcio de la Organización Mundial de la Salud (www.who.int/es), la *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, ESCMID, (<https://www.escmid.org>) y el *Dutch National Institute for Public Health and the Environment* (RIVM) (www.rivm.nl) están promoviendo el programa *Central Asian and Eastern European Surveillance on Antimicrobial Resistance* (CAESAR), para obtener información de países de Asia Central y Europa Oriental empleando la misma metodología que en EARS-Net.

Otras redes similares, con diferente grado de desarrollo incluyen RedLAVRA (Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos) y CARTIPS (*Community-Acquired Respiratory Tract Infection Pathogen Surveillance*, en países de Asia).

Finalmente, varias compañías farmacéuticas de ámbito internacional también han subvencionado estudios supranacionales para disponer de información actualizada sobre resistencia a los antimicrobianos a nivel mundial. Con frecuencia estos programas de financiación privada se han centrado en analizar la resistencia a ciertos compuestos, en ciertos grupos de microorganismos y tipos de infección. Ejemplos de estos programas son los estudios (algunos ya extintos) Alexander project, SENTRY, TSN, TEST, SMART, MYSTIC, ZAAPS, entre otros.

Por último, los datos agregados de sensibilidad son también relevantes para los comités que participan en la definición los puntos de corte (*Clinical and Labora-*

tory Standards Institute, CLSI, en EE.UU (<http://clsi.org>), el *European Committee of Antimicrobial Susceptibility testing*, EUCAST, en Europa y su homónimo en España, el Comité Español del Antibiograma, CoEsAnt), ya que pueden utilizarse, para reconocer las poblaciones que carecen de mecanismos de resistencia (*wild type population*) y definir los denominados puntos de corte epidemiológicos o ECOFF (*epidemiological cut-off values*). Los datos agregados también pueden usarse en la adecuación de los tratamientos antimicrobianos mediante modelizaciones farmacocinéticas y farmacodinámicas (PK/PD) (ver Procedimiento SEIMC nº 46; 2013).

2. ASPECTOS GENERALES PARA LA PREPARACIÓN DEL INFORME ACUMULADO DE ANTIBIOGRAMA

El CLSI ha aprobado el documento “*Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data*” (M39-A4) en el que se presentan directrices generales sobre datos acumulados de antibiograma. De acuerdo con este documento, los informes de datos de sensibilidad acumulados deben considerar múltiples aspectos.

Los datos presentados deben incluir al menos 30 microorganismos de la especie o del grupo considerado. Eventualmente, pueden incluirse datos de más de un año para alcanzar este valor de referencia (o, dependiendo de las circunstancias, datos de más de una institución de la misma zona geográfica), o pueden agruparse varias especies de un mismo género (por ejemplo, en el caso de *Shigella* spp.); en este caso el informe dejará constancia de esta situación. Alternativamente, puede añadirse una nota en el informe indicando la menor validez estadística de los resultados.

Si un mismo laboratorio (por ejemplo un centro de referencia o un centro que coordine este tipo de estudios) proporciona datos para más de un centro, el informe de datos acumulados debe prepararse para cada centro (siempre que se alcance el valor antes indicado de al menos 30 aislamientos por especie/grupo).

El informe debe tener una periodicidad (al menos) anual. Si se estudian un número de aislamientos lo suficientemente grande, puede considerarse preparar informes con mayor frecuencia.

Se debe incluir la información relativa a los microorganismos que se hayan aislado en muestras clínicas

para diagnóstico excluyendo aquellas referidas a estudios de vigilancia, de muestras ambientales o, si es el caso, de muestras no humanas. Los datos de estas muestras podrían eventualmente utilizarse de forma separada y con un objeto de comparación con los procedentes de muestras clínicas. En todo caso, se debe dejar clara constancia de su procedencia.

El informe debe estar basado en los datos finales verificados por el microbiólogo clínico, no en la información cruda que pueda obtenerse del antibiograma (con frecuencia en nuestro entorno, de sistemas automáticos). Si en la interpretación final de los datos que se hace llegar al clínico se aplican reglas expertas o lectura interpretada, el informe debe tener en cuenta este aspecto. Debe prestarse especial atención a la confirmación de fenotipos raros o improbables. Existen diversas publicaciones en las que se puede consultar información más detallada y concreta sobre estos aspectos.

Cuando se consideran todos los microorganismos obtenidos de muestras diagnósticas de un mismo centro, se produce en muchos casos una sobrevaloración de las tasas de resistencia, porque suelen hacerse más estudios microbiológicos en pacientes con una mala respuesta terapéutica (la cual puede ser consecuencia, precisamente, de la resistencia del agente etiológico a los antimicrobianos). Se han publicado múltiples estudios en los que se ha valorado el impacto de los aislamientos duplicados en los resultados finales del informe acumulado de antibiograma. En realidad, no existe un criterio único que, de forma absoluta, pueda considerarse perfecto para resolver esta cuestión, pues cada criterio que se tenga en cuenta proporcionará un tipo de información distinta, y su importancia deberá valorarse en función de la aplicación que se vaya a hacer de la misma. En general, para evitar este tipo de sesgo, se recomienda considerar solo el primer aislado de cada paciente obtenido durante el periodo considerado, sin tener en cuenta que puedan obtenerse posteriormente nuevos aislamientos de la misma especie con igual sensibilidad, o incluso más resistentes, en muestras de igual o diferente tipo. Este es el criterio de referencia que considera el CLSI en su documento M39-A4.

También se ha valorado la preparación del informe en función de:

- Primer aislamiento por episodio (definiendo este último en un espacio temporal de, por ejemplo, 7, 15, 21, 30... días).

- Aislamiento más resistente (de entre todos los aislados en un mismo paciente durante el periodo considerado). Este tipo de aplicación puede ser útil para reconocer fenotipos de especial importancia clínica o epidemiológica.
- Valor medio de la sensibilidad: se calcula el porcentaje proporcional de sensibilidad de cada combinación microorganismo-antimicrobiano para el total de los aislamientos de un paciente.
- Primer aislamiento considerando diferencias en el perfil de sensibilidad. Este criterio ha sido propuesto en un documento de consenso redactado por el *Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance (ESGARS)* de la *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID)*. En este caso se incluyen todos los primeros aislamientos representantes de los distintos fenotipos observados, considerando fenotipos distintos aquellos en los que existe un cambio “mayor” (sensible *versus* resistente) en la categorías clínicas de uno o más (a definir) agentes antimicrobianos. En este caso conviene previamente asegurar que las diferencias de categoría son tales y no representan problemas metodológicos al realizar el antibiograma.

Con el criterio de incluir solo el primer aislamiento, es posible que no se estén considerando cepas diferentes o cepas que hayan adquirido resistencia durante el tratamiento. Estos aislamientos sí deben quedar registrados en la base de datos global, aunque no se incluirán para la preparación del informe acumulado. El reconocimiento de aparición de resistencia durante el tratamiento o de la emergencia de nuevos mecanismos de resistencia debe formar parte de la tarea diaria en el análisis de los datos de antibiograma. En los casos en que se considere clínicamente relevante puede hacerse un análisis independiente considerando estas circunstancias. Por otra parte, si en algún caso se detectara un aislamiento con un mecanismo de resistencia de especial importancia (por ejemplo, resistencia a glucopéptidos en *S. aureus*, resistencia a carbapenémicos probada o posible por producción de carbapenemasas, etc.) puede optarse por reseñar un porcentaje de sensibilidad de solamente el 99% y añadir un comentario sobre el fenotipo/mecanismo en cuestión.

Se deben incluir los antimicrobianos que se informan habitualmente. Si alguno de los antimicrobianos incluidos se informa de forma selectiva (por ejemplo, considerando solo cepas resistentes a otros antimicrobianos), debe dejarse claro este hecho, para evitar

sesgos de interpretación por quienes manejen luego el informe. Si se estudian antimicrobianos que son marcadores de los resultados correspondientes a otros agentes (por ejemplo, cefoxitina u oxacilina para beta-lactámicos en *Staphylococcus*), la base de datos original debe incluir el resultado del antimicrobiano marcador, pero el informe debe incluir el/los antimicrobianos realmente informados al clínico.

Cuando en los informes clínicos del antibiograma de cada microorganismo se incluyen antimicrobianos que solamente se estudian si el correspondiente agente etiológico es resistente a algunos otros de primera línea, los informes acumulados referidos a agentes estudiados selectivamente tienden a presentar tasas de resistencia más altas que si estos se hubieran evaluado para todos los microorganismos, por lo que puede considerarse no incluir estos agentes selectivos o, si se incluyen, esa circunstancia debe quedar claramente recogida en el informe acumulado.

Los informes acumulados de sensibilidad a los antimicrobianos habitualmente se preparan indicando los porcentajes de cepas sensibles (la principal razón para ello radica en que no es frecuente tratar infecciones causadas por microorganismos con la categoría

clínica de intermedio). La definición de la categoría clínica de “sensible” estará basada en los criterios de referencia que emplee el servicio de Microbiología (habitualmente EUCAST o CLSI). Con independencia de ello, en algunos casos (por ejemplo, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus* del grupo viridans y penicilina) se aconseja incluir separadamente los porcentajes de cepas sensibles y de cepas intermedias. Además, muchos laboratorios preparan también informes en los que se incluyen microorganismos con fenotipos de resistencia de especial relevancia clínica, como *S. aureus* resistente a la meticilina o enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido. En las tablas 1 y 2 se presentan sendos ejemplos.

Teniendo en cuenta que los puntos de corte de categorización clínica pueden variar a lo largo del tiempo, es recomendable que la base de datos original contenga los valores reales de CMI o de diámetros de halo, para poder hacer reinterpretación de los resultados cuando se analizan series temporales de datos acumulados de antibiograma. A la hora de almacenar datos concretos de CMI, el documento M39-A4 (que toma como referencia los puntos de corte del propio CLSI) recomienda que para valores inferiores a

Tabla 1. Sensibilidad (%) comparada a los antimicrobianos de aislamientos de *S. aureus* sensible y resistente a meticilina en pacientes ingresados en un centro hospitalario (según criterios EUCAST).

| | n | Amp/ Pen | A/C | Clox | Cd | Eri | Gm | Tob | Lev | Lzd | Rif | T/S | Fos | Tig | Van | Dap |
|--|-----|-------------|-----|------|----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <i>S. aureus</i> sensible a la meticilina | 402 | 17 | 100 | 100 | 87 | 81 | 93 | 90 | 95 | 99 | 99 | 99 | 99 | 100 | 100 | 100 |
| <i>S. aureus</i> resistente a la meticilina | 287 | 0 | 0 | 0 | 75 | 37 | 55 | 43 | 4 | 97 | 97 | 98 | 90 | 100 | 100 | 100 |

n: número de aislamientos; Amp/Pen: ampicilina, penicilina G; A/C: amoxicilina-ácido clavulánico; Clox: cloxacilina; Cd: clindamicina; Dap: daptomicina; Eri: eritromicina; Fos: fosfomicina; Gm: gentamicina; Lev: levofloxacino; Lzd: linezolid; Mup: mupirocina; Rif: rifampicina; T/S: cotrimoxazol; Tig: tigeciclina; Tob: tobramicina; Van: vancomicina.

Tabla 2. Informe sobre la prevalencia de *E. coli* productor de beta-lactamasas de espectro extendido en un servicio de Microbiología Clínica.

| Periodo | Global | | Ingresados | | Consultas externas | | Urgencias | | Atención Primaria | |
|-------------|--------|-------|------------|--------|--------------------|-------|-----------|-----|-------------------|-------|
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| 2013 | 346 | 7,1 % | 89 | 10,7 % | 61 | 6,6 % | 43 | 5 % | 177 | 6,7 % |

n: número de aislamientos

1 mg/L, solo se consideren dos decimales (por ejemplo, 0,125 mg/L se almacenarán como 0,12 mg/L).

Una vez que se ha elaborado una primera versión del informe de datos acumulados, es conveniente que se haga un análisis detallado del mismo y que los correspondientes resultados se validen, preferiblemente haciendo una comparación con los porcentajes de sensibilidad calculados manualmente para una especie o unas pocas especies de microorganismos en un breve período de tiempo, tomando como referencia un archivo en el que se listen los valores de sensibilidad para el o los agentes y el tiempo evaluados. Si se observara alguna discrepancia relevante, sería necesario aclararla antes de emitir el informe acumulado definitivo.

3. EXPORTACIÓN DE DATOS DE ANTIBIOGRAMA

Cada centro debe decidir el modelo de envío de los datos de antibiograma a la base de datos definitiva con la que se elaborará el informe acumulado de datos de antibiograma, teniendo en cuenta la necesidad de que en dicha base queden recogidos los datos finales verificados.

Con frecuencia, la base de datos se organiza por el propio sistema de gestión de laboratorio; cuando ello no es posible y se deban emplear los recursos de que disponga un sistema automático de antibiograma, habrá una clara limitación de la información, por cuanto habitualmente los antibiogramas que no se hayan procesado en dicho sistema solo podrían analizarse de forma independiente.

En función de los datos pormenorizados que se incluyan en el informe, la base de datos debiera incluir información demográfica (identificador único de paciente, edad, sexo, unidad-servicio donde se atiende al paciente, fecha de admisión), relativos a la muestra (número, tipo, fecha de recogida), al microorganismo (identificación, preferiblemente a nivel de especie, número de aislamiento si hubiera más de uno) y a los antimicrobianos (datos finales verificados de CMI o de diámetro de halo, categoría clínica para cada agente).

4. PREPARACIÓN DEL INFORME DE DATOS ACUMULADOS DE ANTIBIOGRAMA

Una forma conveniente y sencilla de preparar un informe de datos acumulados de antibiograma es em-

plear el formato de tabla(s), en la(s) que se incluyan, respectivamente, microorganismos y agentes antimicrobianos, indicando en las casillas de la misma el número de microorganismos incluidos y los correspondientes porcentajes de sensibilidad. Para los casos en los que se sabe que una especie es intrínsecamente resistente a un antimicrobiano, puede emplearse la abreviatura "R" (resistente) y si el agente en cuestión no se ha evaluado para un microorganismo, la celdilla se puede rellenar con un guión o dejarla vacía.

Para la preparación de informes sobre tendencias temporales de sensibilidad, suele resultar más útil la presentación de los datos en forma de figura que en forma de tabla.

El informe debe incluir las fechas a las que se refiere el mismo, la(s) persona(s) responsables de su elaboración (preferiblemente aportando datos de contacto), la metodología empleada para la elaboración de antibiogramas en el servicio de Microbiología Clínica.

Es aconsejable preparar tablas diferentes para bacterias grampositivas y bacterias gramnegativas (para estas últimas, puede diferenciarse entre fermentadores y no fermentadores de la glucosa). Si se dispone de información específica para microorganismos anaerobios o para levaduras, ésta debiera presentarse también de forma individualizada.

Pueden emplearse diversos criterios para listar los microorganismos del informe: alfabéticamente, por grupo taxonómico o por prevalencia. Cada servicio debe definir qué microorganismos se incluirán en su informe. En el documento M39-A4, se aconsejan los siguientes agentes:

- Bacterias gramnegativas: *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Serratia marcescens*, *Shigella* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*.
- Bacterias grampositivas: *Enterococcus* spp. (preferiblemente diferenciando *E. faecalis* y *E. faecium*), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulans*-negativa (pueden listarse de forma separada *S. lugdunensis* y *S. saprophyticus*), *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* grupo *viridans*.
- Bacterias anaerobias: *Bacteroides fragilis*, *Bacte-*

roides grupo *fragilis* (diferentes a *B. fragilis* propiamente dicho), *Clostridium perfringens*.

Cada centro puede definir la idoneidad de estas recomendaciones, e incluir (o suprimir en su caso) adicionalmente otros microorganismos, para los que se alcance el valor de referencia de al menos 30 aislamientos. En la Tabla 3 se recoge un ejemplo concreto de parte del informe de un servicio de Microbiología Clínica.

Para la denominación de los antimicrobianos pueden emplearse abreviaturas cuyo significado se recoja a

pie de tabla. En su caso, estas abreviaturas deben ser las mismas que consten en el informe clínico habitual. Pueden seguirse varios criterios para preparar informes detallados de datos acumulados de antibiograma:

- Por unidades/servicios/localización del paciente: los informes se pueden referir a unidades de cuidados intensivos, pacientes ingresados o comunitarios. En ocasiones pueden presentarse dificultades para asignar los resultados a un epígrafe concreto por limitaciones en la información disponible en el servicio de Microbiología (por ejemplo,

Tabla 3. Informe anual de sensibilidad acumulada de bacterias gramnegativas aisladas en pacientes ingresados en un centro hospitalario.

| Microorganismo | n | Amk | Amp | A/C | Cef | Cur | Ctx | Caz | Fep | Cip | Etp | Gm | Imp | Mpm | P/T | Tig | T/S | Tob |
|-------------------------------------|------|-----------------|-----|-----|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 145 | 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | 16 | 0 | 14 | 10 | 10 | - | 12 | 13 | 15 |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 36 | 92 | 0 | 0 | 0 | 0 | 67 | 64 | 89 | 67 | 94 | 75 | 97 | 97 | 83 | 81 | 76 | 81 |
| <i>Citrobacter koseri</i> | 19 | 100 | 0 | 100 | 90 ^U | 90 | 95 | 100 | 95 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 93 | - | 93 | 100 |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 69 | 97 | 0 | 0 | 0 | 0 | 78 | 74 | 97 | 86 | 97 | 98 | 97 | 97 | 83 | 88 | 89 | 97 |
| <i>Enterobacter cloacae complex</i> | 289 | 93 | 0 | 0 | 0 | 0 | 58 | 59 | 70 | 66 | 89 | 82 | 99 | 99 | 68 | 84 | 73 | 75 |
| <i>Escherichia coli</i> | 1222 | 96 | 29 | 67 | 46 ^U | 76 | 87 | 87 | 89 | 52 | 99 | 88 | 100 | 100 | 83 | 97 | 61 | 85 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 111 | - | 50 | 75 | - | 74 | - | - | - | 100 | - | - | - | - | - | - | 80 | - |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 95 | 100 | 0 | 81 | 72 ^U | 80 | 92 | 95 | 92 | 91 | 99 | 99 | 100 | 100 | 83 | 96 | 92 | 99 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 112 | 97 | 0 | 81 | 68 ^U | 79 | 87 | 86 | 86 | 80 | 98 | 99 | 99 | 99 | 84 | 88 | 88 | 90 |
| <i>Moraxella catarrhalis</i> | 30 | - | 7 | 100 | - | 100 | 100 | - | - | 100 | 100 | - | 100 | 100 | 100 | - | 79 | - |
| <i>Morganella morganii</i> | 99 | 98 | 0 | 0 | 0 | 0 | 73 | 74 | 98 | 66 | 99 | 82 | 55 | 100 | 96 | 0 | 64 | 94 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 125 | 94 | 59 | 88 | 81 ^U | 98 | 99 | 99 | 99 | 63 | 100 | 75 | 53 | 100 | 99 | 0 | 63 | 81 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 956 | 78 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 68 | 64 | 41 | 0 | 56 | 54 | 58 | 70 | 0 | 0 | 68 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 136 | 90 ^R | 0 | 0 | 0 | 0 | 82 | 93 | 92 | 77 | 95 | 82 | 99 | 99 | 89 | 67 | 82 | 88 ^R |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 90 | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - | 99 | - |

n: número de aislamientos

(-) Antibiótico no analizado para el correspondiente microorganismo o analizado en escasos aislamientos.

Amk: amikacina; Amp: ampicilina; A/C: amoxicilina+ácido clavulánico; Cef: cefalotina; Cur: cefuroxima; Ctx: cefotaxima; Ctaz: ceftazidima; Fep: cefepima; Cip: ciprofloxacino; Etp: ertapenem;

Gm: gentamicina; Imp: imipenem; Mpm: meropenem; P/T: piperacilina+tazobactam; Tig: tigeciclina; T/S: trimetoprim+sulfametoxazol o cotrimoxazol; Tob: tobramicina.

U: Interpretación de sensibilidad válida sólo para infecciones urinarias no complicadas.

R: Se considera que *Serratia marcescens* tiene resistencia intrínseca de bajo nivel a tobramicina y amikacina

pacientes atendidos en urgencias o atendidos en consultas externas hospitalarias y su consideración como pacientes ingresados o no). Las decisiones tomadas al respecto para la preparación del informe deben reseñarse en el propio informe.

- Atendiendo al fenotipo de resistencia de algunos microorganismos (ver previamente).
- En función del tipo de muestra: es interesante considerar los resultados específicos de muestras de orina o de hemocultivos, en el primer caso por el sesgo que pueden producir los datos de patógenos urinarios en el total de datos analizados, en el segundo caso por la importancia para orientar el tratamiento empírico de una situación de especial importancia clínica.

En ocasiones puede ser de interés que el informe acumulado de antibiograma incluya datos sobre sensibilidad a combinaciones de antimicrobianos. De esta forma, puede presentarse información sobre el porcentaje adicional de sensibilidad que se obtendría si se considera un segundo antimicrobiano (con respecto al porcentaje de un primer agente aislado). Este tipo de información puede ser de relevancia para patógenos en los que se dispone de pocas alternativas terapéuticas (como en el caso de muchas bacterias gramnegativas no fermentadoras). En cualquier caso, debe tenerse en cuenta que dicha información no supone, necesariamente, que el uso combinado de dos antimicrobianos sea mejor que el uso de uno solo, y desde luego no considera el posible antagonismo entre dos compuestos. En caso de recoger esta información, debe indicarse qué tipo de técnica se ha empleado para definir la sensibilidad de los antimicrobianos en combinación.

5. ASPECTOS ESTADÍSTICOS DEL INFORME ACUMULADO DE ANTIBIOGRAMA

La extrapolación de los resultados del informe como representantes de la situación real en los agentes etiológicos concretos que producen patología en el entorno correspondiente se beneficia de la aplicación de métodos estadísticos, en particular la definición de intervalos de confianza para establecer la precisión de los porcentajes de sensibilidad y la evaluación de la significación estadística de las diferencias que se observan entre dos valores de sensibilidad.

Los porcentajes de sensibilidad que se recogen en cada combinación microorganismo-antimicrobiano suponen una estimación de la verdadera proporción

de cepas que conforman la población total, real, del agente considerado. Se pueden definir estadísticamente (los aspectos concretos pueden consultarse en el documento M39-A4) intervalos de confianza que señalen la precisión del valor absoluto del porcentaje presentado en el informe.

Es interesante comparar los resultados de informes correspondientes a diferentes periodos (años, habitualmente), servicios, instituciones, etc. Esta comparación se puede llevar a cabo empleando métodos estadísticos sencillos (fundamentalmente la prueba chi-cuadrado). Ahora bien, debe distinguirse entre significación estadística (la ofrecida por el método antes reseñado) y la significación clínica o epidemiológica. Obviamente, cuando se comparan números absolutos muy grandes de aislamientos, pequeñas variaciones en los porcentajes de sensibilidad pueden suponer diferencias estadísticamente significativas, pero estas pueden no suponer un impacto en las decisiones terapéuticas o no abarcar tendencias que clínicamente puedan tener una gran repercusión (tal como la aparición de unas pocas cepas de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenémicos), lo que convendrá analizar oportunamente.

6. UTILIZACIÓN DEL INFORME ACUMULADO DE ANTIBIOGRAMA

Quizá la aplicación más relevante de este tipo de informes es servir como elemento de referencia para la planificación del tratamiento empírico y también con fines de educación en los programas de mejora de utilización de antimicrobianos (programas PROA).

Debe evaluarse la forma de hacer más fácilmente accesible el informe a los clínicos responsables de los pacientes. Se han empleado para ello distintas soluciones (que pueden ser complementarias). La inclusión de un formato electrónico en la página web de la institución es muy recomendable, pero debe hacerse la oportuna publicidad de la misma para asegurar que los posibles usuarios conozcan esta opción; también se puede preparar un folleto impreso que pueda llevarse con comodidad en la bata del clínico, o se puede incluir una copia resumida del informe en la propia historia clínica del paciente.

Cuando se presenten situaciones en las que el informe de antibiograma no proporcione información sobre porcentajes en un centro dado de alguna combinación microorganismo-antimicrobiano, pueden tomarse en

consideración los datos procedentes de estudios regionales o nacionales.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Bantar C, Alcázar G, Franco D et al. Are laboratory-based antibiograms reliable to guide the selection of empirical antimicrobial treatment in patients with hospital-acquired infections? *J Antimicrob Chemother*. 2007; 59:140-143.
- Cantón R. Lectura interpretada. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28:375-385.
- Cebrián L, Rodríguez JC, Escribano I, et al. Influence of various criteria for elimination of duplicates when calculating the prevalence and antibiotic susceptibility of microorganisms associated with urinary infections. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25:173-176.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline. Fourth Edition. CLSI document M39-A4. CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA, 2014.
- Cornaglia G, Hryniewicz W, Jarlier V, et al. European recommendations for antimicrobial resistance surveillance. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:349-383.
- El-Azizi M, Mushtaq A, Drake C, et al. Evaluating antibiograms to monitor drug resistance. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:1301-1302.
- Ernst EJ, Diekema DJ, BootsMiller BJ, et al. Are United States hospitals following national guidelines for the analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility data?. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 49:141-145.
- Farner SM. Use of local community hospital data for surveillance of antimicrobial resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006; 27:299-301.
- Halstead DC, Gomez N, McCarter YS. Reality of developing a community-wide antibiogram. *J Clin Microbiol* 2004; 42:1-6.
- Hindler JF, Stelling J. Analysis and presentation of cumulative antibiograms: a new consensus guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. *Clin Infect Dis* 2007; 44:867-73.
- Horvat RT, Klutman NE, Lacy MK, et al. Effect of duplicate isolates of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on antibiogram data. *J Clin Microbiol* 2003; 41:4611-4616.
- Kuster SP, Ruef C, Zbinden R, et al. Stratification of cumulative antibiograms in hospitals for hospital unit, specimen type, isolate sequence and duration of hospital stay. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:1451-61.
- Lamoth F, Wenger A, Prod'hom G, et al. Comparison of hospital-wide and unit-specific cumulative antibiograms in hospital- and community-acquired infection. *Infection* 2010; 38:249-253.
- Lautenbach E, Nachamkin I. Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility data (antibiograms): substantial variability across medical centers in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:409-12.
- Leclercq R, Cantón R, Brown DFJ, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19:141-160.
- Magee JT. Effects of duplicate and screening isolates on surveillance of community and hospital antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54:155-62.
- Miller JM, Astles R, Baszler T, et al. Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories. Recommendations of a CDC-convened, Biosafety Blue Ribbon Panel. *MMWR Surveill Summ*. 2012; 61,Suppl:1-102.
- Muñoz I, Vanaclocha H, Martín-Sierra M, et al. Red de Vigilancia Microbiológica de la Comunidad Valenciana (RedMLVA). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26:77-81.
- Noguera O, López-Riquelme N, Rodríguez JC, et al. Fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* over 18 years: effect of different systems for eliminating duplicates. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66:2182-2184.
- Noguera O, López-Riquelme N, Rodríguez JC, et al. Extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* over 18 years: effect of different systems for eliminating duplicates. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 40:189-190.
- Pakyz AL. The utility of hospital antibiograms as tools for guiding empiric therapy and tracking resistance. Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy* 2007; 27:1306-1312.
- Peña C, Suarez C, Ocampo-Sosa A, et al. Effect of adequate single-drug vs combination antimicrobial therapy on mortality in *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: a post Hoc analysis of a prospective cohort. *Clin Infect Dis* 2013; 57:208-16.
- Pogue JM, Alaniz C, Carver PL, Pleva M, Newton D, DePestel DD. Role of unit-specific combination antibiograms for improving the selection of appropriate empiric therapy for gram-negative pneumonia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32:289-292.
- Poupard J, Brown J, Gagnon R, et al. Methods for data mining from large multinational surveillance studies. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:2409-2419.
- Rodríguez JC, Sirvent E, López-Lozano JM, et al. Criteria of time and antibiotic susceptibility in the elimination of duplicates when calculating resistance frequencies. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52:132-134.
- Sahuquillo-Arce JM, Selva M, Perpiñán H, et al. Antimicrobial resistance in more than 100,000 *Escherichia coli* isolates according to culture site and patient age, gender, and location. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:1222-1228.

27. Shannon KP, French GL. Validation of the NCCLS proposal to use results only from the first isolate of a species per patient in the calculation of susceptibility frequencies. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50:965-969.
28. Van Beneden CA, Lexau C, Baughman W, et al. Aggregated antibiograms and monitoring of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:1089-1095.
29. Zapantis A, Lacy MK, Horvat RT, et al. Nationwide antibiogram analysis using NCCLS M39-A guidelines. *J Clin Microbiol* 2005; 43:2629-2634.

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-1 | |
| | | Edición N° 01 | Página 1 de 8 |

PNT-IASA-01

Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos

| ELABORADO | | REVISADO Y APROBADO | |
|----------------|-------|---------------------|-------|
| Nombre / Firma | Fecha | Nombre / Firma | Fecha |
| | | | |

| EDICIÓN | FECHA | ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES |
|---------|-------|-------------------------------|
| 01 | | Edición inicial |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

COPIA REGISTRADA N° ASIGNADA A

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-1 | |
| | | Edición N° 01 | Página 2 de 8 |

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir el procedimiento para elaborar un informe periódico de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos. La principal finalidad del mismo es orientar en la planificación del tratamiento empírico de pacientes con sospecha de infección, además, permite el estudio de la evolución temporal de las tendencias locales de sensibilidad a los antimicrobianos y la comparación con otras instituciones.

El informe se elabora a partir de los datos de sensibilidad obtenidos de los antibiogramas individuales, por medio de programas informáticos validados para este fin, a intervalos regulares de tiempo.

La monitorización periódica de la sensibilidad a los antimicrobianos en el ámbito hospitalario es un pilar esencial de los Programas de Optimización de Uso de Antimicrobianos en los Hospitales Españoles (PROA), auspiciado por el Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH) de la SEIMC.

2. FUNDAMENTO

Para la elaboración del informe de sensibilidad acumulada hay una consideración de cumplimiento obligado: los datos deben ser **consistentes** (dependientes por tanto de la calidad de los antibiogramas de uso rutinario) y **extraídos por programas informáticos que permitan eliminar aislados duplicados**. La no eliminación de los mismos, tiene claras implicaciones en el diseño de las pautas de antibioterapia empírica.

En consonancia con las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, documento M39-A4 de 2014), se considera:

1. Analizar y presentar el informe con periodicidad como mínimo una vez al año.
2. Incluir sólo resultados validados.
3. Incluir, como norma general, sólo especies con ≥ 30 aislados.
4. Incluir sólo aislados de muestras enviadas para diagnóstico, excluyendo los aislados de los estudios de vigilancia epidemiológica.
5. Eliminar duplicados, incluyendo sólo el primer aislado de una especie por paciente, independientemente del sitio anatómico de recogida o perfil de sensibilidad antibiótica.
6. Incluir sólo los porcentajes de aislados sensibles a los antibióticos estudiados de forma habitual en cada centro, incluidos los que no se han informado al clínico en función del ámbito de petición. Se deben excluir los antibióticos suplementarios probados sólo en los aislados resistentes.
7. Registrar sólo los valores de sensibilidad (no se recomienda informar del porcentaje de aislados con sensibilidad intermedia salvo en algunos casos).
8. *Streptococcus pneumoniae* y cefalosporinas de 3ª generación/penicilina. Informar los valores de sensibilidad y resistencia intermedia según los puntos de corte establecidos para meningitis y para infecciones no meningéas.
9. *Streptococcus* grupo *viridans* y penicilina. En este caso se recomienda también informar las cepas sensibles y las que presentan resistencia intermedia.
10. *Staphylococcus aureus*. Informar la sensibilidad de todos los aislados y de los resistentes a la meticilina.

Los datos de sensibilidad se deben desagregar en función de:

1. Procedencia de determinados aislados. Se deben agrupar los aislados en urinarios y no urinarios a la hora de calcular los porcentajes de sensibilidad.
2. Es recomendable realizar un informe complementario de aislados procedentes de hemocultivos, informando sólo las especies con un número suficiente de aislados.
3. Origen de los pacientes. Se debe separar la información entre pacientes ingresados y no ingresados. Si el número de aislamientos es suficiente, además se puede informar de forma separada la sensibilidad de los

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-1 | |
| | | Edición N° 01 | Página 3 de 8 |

aislados de las unidades de alto riesgo (con especial atención a la UCI), de pediatría y de los centros socio sanitarios (residencias de ancianos, centros de convalecencia, centros de larga estancia, etc.)

De forma general se debe aplicar el método de eliminación de duplicados recomendado por el CLSI (primer aislado de cada paciente). Pueden considerarse otras opciones como se recoge en este documento técnico.

Los antibióticos a analizar para considerar un aislamiento como distinto se detallan en el documento de consenso (Cornaglia G. et al. 2004). Para los microorganismos más importantes, estos antibióticos se detallan a continuación:

1. *Staphylococcus aureus*: oxacilina, eritromicina, ciprofloxacino, gentamicina, fosfomicina, rifampicina, cotrimoxazol y vancomicina
2. *Pseudomonas aeruginosa*: ceftazidima, cefepima, piperacilina-tazobactam, imipenem, meropenem, ciprofloxacino, tobramicina y amikacina
3. *Acinetobacter baumannii*: los mismos que para *P. aeruginosa* y además ampicilina/sulbactam.
4. Enterobacterias: amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, cefotaxima, fosfomicina, ciprofloxacino, cotrimoxazol y gentamicina.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

1. Cornaglia G, Hryniewicz W, Jarlier V et al. ESCMID Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance. European recommendations for antimicrobial resistance surveillance. Clin Microbiol Infect 2004;10:349-383.
2. Hindler JF, Stelling J. Analysis and presentation of cumulative antibiograms: a new consensus guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. Clin Infect Dis 2007; 44: 867-873.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline. Fourth Edition. CLSI document M39-A4. CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA, 2014.

4. MUESTRAS

No procede.

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

No procede.

6. APARATOS Y MATERIAL

- *Software* del sistema semiautomático o automático que utiliza cada laboratorio de microbiología de forma habitual para estudiar la sensibilidad a los antibióticos. Entre los más utilizados: MicroScan (Siemens), Vitek (BioMérieux), BD Phoenix (Becton Dickinson), Sensititre (ThermoFisher).
- *Software* de la OMS, WHONET 5. Se descarga libre tras rellenar la debida ficha de registro (www.who.int/drugresistance/whonetsoftware/en/). Opcional.
- Ordenador personal con el programa Excel
- Calculadora

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-1 | |
| | | Edición N° 01 | Página 4 de 8 |

7. PROCEDIMIENTO

7.1. ACTIVAR EL MÓDULO DE EPIDEMIOLOGÍA DE LOS INSTRUMENTOS AUTOMATIZADOS DE ANTIBIOGRAMAS O EN SU DEFECTO, EXPORTAR ARCHIVO DE DATOS DE SENSIBILIDAD A WHONET 5.

La mayor parte de los sistemas comerciales de antibiograma disponen de un módulo de epidemiología que permite obtener los datos de sensibilidad acumulada acotando por fechas.

Si se desea utilizar WHONET, se puede utilizar el software BACLINK (se descarga a la vez en las versiones nuevas de WHONET 5), que importa y transfiere los datos desde el sistema del instrumento automatizado de sensibilidad a WHONET. Este software de la OMS es compatible con la mayoría de versiones de Windows, incluida la 7. En Internet se encuentran disponibles versiones en español del Manual de Usuario de WHONET 5.

En cualquier caso es indispensable:

1. Verificar si los puntos de corte de sensibilidad de los antibióticos a estudiar están actualizados (según EU-CAST o CLSI). En caso de duda, comprobar con las distribuciones de CMI's para cada microorganismo, y corregir errores. Por lo general, tanto los módulos de epidemiología como WHONET proporcionan simultáneamente los datos de sensibilidad o resistencia y las distribuciones de CMI's.
(enlaces de WHONET: http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Todo%20IIH/Manual_Whonet.pdf.
<http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/SiteAssets/Paginas/documentos-IAAS/INT011%20Instructivo%20Whonet.pdf>
<http://www.whonet.org/DNN/LinkClick.aspx?fileticket=Mco1%2FSON2dA%3D&tabid=62&mid=619&language=en-US>).
2. Activar la opción "Eliminar duplicados" y dentro de esta opción, seleccionar el **primer aislado de una especie por paciente**, independientemente del sitio anatómico de recogida o perfil de sensibilidad antibiótica.
3. Desagregar los datos de sensibilidad en función de los diferentes criterios a aplicar.
4. Acotar por fechas. Como mínimo se debería emitir un informe anual de sensibilidad acumulada a los antibióticos.

7.2. MICROORGANISMOS Y ANTIMICROBIANOS. INFORMACIÓN MÍNIMA IMPRESCINDIBLE.

En general, se deben informar sólo los antimicrobianos que estén recomendados para el tratamiento por criterios actualizados. Así, se deberán informar, como mínimo, y teniendo en cuenta los antimicrobianos evaluados en cada centro, los datos de sensibilidad de los siguientes géneros y/o especies, debido a su especial interés epidemiológico y clínico:

1. *S. aureus*
 - Oxacilina
 - Vancomicina
 - Macrólidos y clindamicina
 - Gentamicina
 - Linezolid
 - Daptomicina
 - Tasa de cepas resistentes a meticilina (SARM)

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-1 | |
| | | Edición N° 01 | Página 5 de 8 |

2. *Staphylococcus coagulasa* negativos.

- Oxacilina
- Vancomicina
- Linezolid
- Daptomicina

3. *Enterococcus* spp. (desagregar por *E. faecalis* y *E. faecium* si es posible)

- Penicilina y ampicilina
- Vancomicina
- Linezolid
- Daptomicina
- Sinergia de aminoglucósidos

4. *Streptococcus pneumoniae*.

- Penicilina
- Cefalosporinas de 3ª generación
- Macrólidos
- Levofloxacino

5. *Streptococcus* grupo *viridans*.

- Penicilinas
- Vancomicina

6. *Streptococcus pyogenes* y *agalactiae*

- Macrólidos y clindamicina

7. Géneros de enterobacterias más importantes separadas por especies (en función del número de aislados de cada centro se deben seleccionar las especies y si fuera posible, separar los datos en aislados totales y productoras de betalactamasas de espectro extendido)

- Amicacina
- Ampicilina
- Amoxicilina-ácido clavulánico
- Cefuroxima (sólo en infecciones urinarias)
- Cefalosporinas de 3ª generación
- Carbapenemas: ertapenem, imipenem y meropenem (puede informarse sensibilidad disminuida y resistencia)
- Cotrimoxazol
- Ciprofloxacino (puede informarse sensibilidad disminuida y resistencia, especialmente en *Salmonella* spp)
- Colistina
- Fosfomicina
- Gentamicina
- Tobramicina
- Nitrofurantoína (sólo en aislados urinarios)
- Tasa de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido
- Tasa de cepas productoras de carbapenemasas

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-1 | |
| | | Edición N° 01 | Página 6 de 8 |

8. *Pseudomonas aeruginosa*

- Aminoglucósidos
- Ciprofloxacino
- Piperacilina-tazobactam
- Ceftazidima y cefepima
- Carbapenemas: imipenem y meropenem
- Colistina
- Fosfomicina
- Tasa de cepas resistentes a carbapenemas

9. *Acinetobacter baumannii*

- Aminoglucósidos
- Ciprofloxacino
- Piperacilina-tazobactam
- Ceftazidima y cefepime
- Carbapenemas: imipenem y meropenem
- Colistina
- Tigeciclina
- Fosfomicina
- Tasa de cepas resistentes a carbapenemas

10. *Stenotrophomonas maltophilia*

- Levofloxacino
- Ceftazidima
- Cotrimoxazol
- Cloranfenicol
- Minociclina

11. *Bacteroides grupo fragilis*

- Metronidazol
- Amoxicilina-ácido clavulánico
- Carbapenemas

12. *Campylobacter jejuni*

- Eritromicina
- Ciprofloxacino

13. *Haemophilus influenzae*

- Ampicilina
- Amoxicilina-ácido clavulánico
- Cefotaxima
- Macrólidos

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-1 | |
| | | Edición N° 01 | Página 7 de 8 |

14. *Neisseria meningitidis*

- Penicilina
- Cefotaxima

15. *Neisseria gonorrhoeae*

- Penicilina
- Cefotaxima
- Tetraciclinas
- Ciprofloxacino

16. *Mycobacterium tuberculosis*

- Isoniacida
- Rifampicina
- Etambutol
- Estreptomina
- Pirazinamida
- Fluoroquinolonas

17. Levaduras (hay que separar los datos en función de la especie)

- Anfotericina B
- Azoles
- Candinas

En centros con poblaciones especiales, se recomienda comunicar los resultados de *Burkholderia cepacia*.

8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

- Sólo se deben analizar los datos cuando el número de aislados de pacientes diferentes es superior a 30.
- En cada tabla o gráfico de datos e indicará:
 - Número de aislamientos estudiados
 - Fechas de estudio
 - Características de los pacientes: hospitalizados, no hospitalizados, etc.
- Es recomendable calcular la variación interanual de las tasas de resistencia para cada microorganismo en cada ámbito, indicando si las diferencias son estadísticamente significativas
- También se recomienda comparar los datos propios con datos publicados en otros ámbitos (de reconocido prestigio) para ver si es razonable la extrapolación de recomendaciones de terapia empírica.

9. RESPONSABILIDADES

No procede.

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Presentación del informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-1 | |
| | | Edición N° 01 | Página 8 de 8 |

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

- Aunque el criterio de S/I/R depende del valor de la CMI o del diámetro en mm. del halo de inhibición, de acuerdo con un criterio estandarizado (CLSI o EUCAST), en determinadas parejas de microorganismo/antimicrobiano, hay que corregir la interpretación de sensibilidad por métodos alternativos (por ejemplo, la sensibilidad a clindamicina con resistencia a eritromicina. En este caso, si se demuestra resistencia inducible en *Staphylococcus* y *Streptococcus*, se reinterpreta como resistente).
- El análisis de las tendencias de sensibilidad a lo largo del tiempo requiere el mantenimiento de los datos cuantitativos (CMIs, mm de halo de inhibición) con la reinterpretación de los resultados de acuerdo a los puntos de corte vigentes cuando se efectúa el estudio. Si hay dificultades con el *software* disponible, puede hacerse de forma manual a partir de las distribuciones de CMIs (exportación de datos a hoja de Excel) y los puntos de corte deseados.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Este procedimiento es de utilidad para evaluar la sensibilidad local a los antibióticos, y por tanto puede servir de ayuda para una mejor selección del tratamiento antibiótico empírico inicial. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que sólo se pueden obtener datos fiables si los procedimientos de estudio de la sensibilidad antibiótica han sido realizados por procedimientos estandarizados y con sistemas que garanticen la calidad de los mismos.
- Al considerar únicamente el primer aislado de cada pacinete, no se tienen en cuenta los nuevos episodios de infección causados por la misma especie y diferente fenotipo de resistencia, ni tampoco se tiene en cuenta la aparición de resistencias durante el curso de la infección.
- Las tasas de sensibilidad antimicrobiana dependen de las prácticas locales de recogida de muestras, por lo que su valor para guiar en las decisiones de tratamiento antimicrobiano puede estar comprometido si las muestras clínicas son poco representativas de las infecciones de una población determinada.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline. Fourth Edition. CLSI document M39-A4. CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA, 2014.
2. Hindler JF, Stelling J. Analysis and presentation of cumulative antibiograms: a new consensus guideline from the Clinical and Laboratory Standards Institute. Clin Infect Dis 2007; 44: 867-873.
3. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 268-281.

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Métodos estadísticos aplicados en el informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-2 | |
| | | Edición N° 01 | Página 1 de 5 |

PNT-IASA-2

Métodos estadísticos aplicados en el informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos

| ELABORADO | | REVISADO Y APROBADO | |
|----------------|-------|---------------------|-------|
| Nombre / Firma | Fecha | Nombre / Firma | Fecha |
| | | | |

| EDICIÓN | FECHA | ALCANCE DE LAS MODIFICACIONES |
|---------|-------|-------------------------------|
| 01 | | Edición inicial |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

COPIA REGISTRADA N°.....ASIGNADA A.....

Este documento es propiedad del Servicio de Microbiología del Hospital/Centro.....
La información en él contenida no podrá reproducirse total ni parcialmente sin autorización escrita del Responsable de su elaboración. Las copias no registradas no se mantienen actualizadas a sus destinatarios.

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Métodos estadísticos aplicados en el informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-2 | |
| | | Edición N° 01 | Página 2 de 5 |

1. PROPÓSITO Y ALCANCE

El objetivo del presente documento es describir los métodos estadísticos más utilizados en el análisis de la sensibilidad acumulada a los antibióticos.

El informe de sensibilidad acumulada se elabora a partir de los datos de sensibilidad obtenidos de los antibiogramas individuales. Si los datos son consistentes (se han eliminado aislados duplicados, se han excluido los aislados de vigilancia epidemiológica y se ha tenido la precaución de eliminar los fenotipos de resistencia “imposibles”), el informe se ajustará a la realidad local y será de gran interés tanto para los clínicos como para los órganos institucionales encargados del control de la infección y del uso juicioso de los antibióticos.

Pero sin duda el interés aumentará si se considera que la muestra es representativa de la población bacteriana que produce las enfermedades infecciosas y por tanto que pueden extrapolarse los resultados de sensibilidad obtenidos. Es en este punto donde se muestran útiles los métodos estadísticos.

2. FUNDAMENTO

El *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) en su documento M39-A4 de 2014 recomienda los siguientes métodos estadísticos:

1. Establecimiento de los **intervalos de confianza de los estimadores de sensibilidad (%S)**. Dado que el parámetro poblacional no se puede medir, hay que realizar una aproximación mediante la estimación, y los intervalos de confianza ayudan a analizar la precisión de nuestra estimación. Es habitual aceptar un intervalo de confianza (IC) del 95%, lo que significa que si el estudio se repite con el mismo tamaño muestral, el 95% de las veces el IC incluiría el verdadero parámetro poblacional. Según GF Dawson, los intervalos de confianza son como paraguas que intentan “atrapar” el parámetro poblacional que estimamos. Un mayor tamaño muestral conduce a un IC más estrecho y a un aumento de la precisión de la estimación. Por ejemplo: para un tamaño muestral de $n=10$, un %S del 50% presenta un IC95% de 24-76%. El mismo %S del 50%, para un tamaño muestral de $n=1000$, presenta un IC95% de 47-53%. En el cálculo del IC se asume que se ha estudiado una muestra aleatoria y representativa de la población de referencia.
2. **Determinación de la significación estadística de la diferencia entre dos proporciones**. Se debe analizar si las diferencias observadas entre los %S de los diferentes antimicrobianos son estadísticamente significativas, y determinar la magnitud de esas diferencias. Dado que si se repitiera el estudio con otras muestras podrían observarse distintas diferencias, hay que calcular un intervalo que contenga, con una determinada confianza, la verdadera magnitud de la diferencia. De acuerdo con Argimón y Jiménez (2004), el IC, además de indicar si la diferencia es o no estadísticamente significativa, permite conocer entre qué límites es probable que se encuentre la verdadera diferencia, lo que es muy útil en la interpretación de los resultados.
3. **Análisis de tendencias temporales de las tasas de sensibilidad**. Para examinar las tendencias de las tasas de sensibilidad durante periodos largos de tiempo, lo que tiene un evidente interés epidemiológico, se puede utilizar la prueba de chi-cuadrado de tendencias.

En el presente documento se describe la metodología de los métodos estadísticos más utilizados en el análisis de la sensibilidad acumulada a los antimicrobianos.

3. DOCUMENTOS DE CONSULTA

- *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data; approved guideline. Fourth edition. CLSI document M39-A4. CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA, 2014.
- Argimón JM, Jiménez J. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. Madrid. Elsevier, 2004.

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Métodos estadísticos aplicados en el informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-2 | |
| | | Edición N° 01 | Página 3 de 5 |

4. MUESTRAS

No procede.

5. MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

No procede.

6. APARATOS Y MATERIAL

- Tabla H1 del Apéndice H del documento M39-A4. Guía rápida que provee de IC95% para %S y tamaños muestrales seleccionados. Por ejemplo, para un %S del 80%, y un tamaño muestral de $n=100$, el IC95% es 71-87%.
- Tablas H2 (disminución de %S) y H3 (incrementos de %S) del Apéndice H del documento M39-A4. Guía rápida que permite determinar si la diferencia observada entre dos %S de años sucesivos son estadísticamente significativos. La primera columna de cada tabla contiene el %S inicial. La primera fila propone el tamaño muestral y la fila correspondiente al %S inicial la nueva tasa del %S que sería estadísticamente significativo para un valor de P de 0,05.
Por ejemplo: el %S para ampicilina en *P. mirabilis* en 2007 fue del 80%. En 2008 y siempre con un tamaño muestral similar, tendría que disminuir por debajo del 66% para ser estadísticamente significativo.
- Ordenador personal con el programa Excel. Se ha diseñado una herramienta para facilitar el cálculo de los métodos estadísticos propuestos en este documento sobre hojas Excel: IC95% del %S, comparación de porcentajes con el IC95% de la diferencia y el análisis de la regresión lineal. El libro Excel se puede descargar desde este enlace http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia51-HerramientaEstadistica_Pnt02.xls; (programador de las hojas de excel, Ismael Barbero Martínez, matemático).
- Calculadora

7. PROCEDIMIENTO

7.1. CÁLCULO DE LOS IC95% DE LOS ESTIMADORES DE %S

De acuerdo al documento M39-A4 se propone el método aproximado de Agresti-Coull para el cálculo del IC95% de una estimación, teniendo en cuenta el %S y la N del número de aislados. Para los tamaños muestrales de ≤ 30 , se propone el método más conservador de Clopper-Pearson.

En la herramienta Excel de este PNT sólo hay que sustituir los valores de %S y N del número de aislados del ejemplo por los de la muestra a considerar.

7.2. DETERMINACIÓN DE LA SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA Y DE LA MAGNITUD DE LA DIFERENCIA ENTRE DOS PROPORCIONES

De acuerdo al documento M39-A4 se propone el método de chi-cuadrado. Dado que este método no trabaja bien con muestras pequeñas, ni cuando el %S se acerca a 0%, se propone la aproximación exacta de Fisher.

Como la medida del efecto es una diferencia, si el IC95% incluye el 0, el resultado no es estadísticamente significativo, y si por el contrario, el IC excluye el 0, se concluye que la diferencia observada es estadísticamente significativa.

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Métodos estadísticos aplicados en el informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-2 | |
| | | Edición N° 01 | Página 4 de 5 |

En la hoja Excel se muestran los valores de %S de una serie de antibióticos para *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *B. fragilis*, en aislados intrahospitalarios (IHO) y en UCI. El valor de P está automatizado. Si la $P \leq 0,05$ aparecerá en rojo y en caso contrario en verde. En el IC95% aparecen los dos extremos + ó - dependiendo de si el primer %S a comparar es < ó > que el segundo %S. Si la P no es estadísticamente significativa aparecerá en verde.

Sólo hay que sustituir los valores absolutos de N (tamaño de muestra) y n° de aislados del ejemplo por los de la muestra a considerar. Una vez introducidos los nuevos valores se recalculan los %S y los IC95%, con la P de significación estadística.

7.3. ANÁLISIS DE TENDENCIAS DE LAS TASAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS

Dado que se pueden observar cambios graduales importantes en los %S a lo largo de los años y que pueden pasar desapercibidos en los análisis de dos años sucesivos, debido a que son demasiado pequeños para alcanzar la significación estadística, se propone, de acuerdo al documento M39-A4, el análisis de tendencias por el método de chi-cuadrado de tendencias. Matemáticamente, es similar a una prueba de regresión lineal simple. Se busca la recta que mejor se ajusta a la nube de puntos de los %S. Tiene por expresión $Y = bX + a$, donde la ordenada en el origen, "a", indica el valor de Y que corresponde a $X = 0$, es el punto en que la recta corta al eje vertical. El coeficiente de regresión o pendiente de la recta de regresión, "b", indica cuanto varía Y por cada unidad que aumenta X. El valor de "b" depende de las unidades en que se miden las variables (en nuestro caso, las unidades son años). La recta es ascendente hacia la derecha si es $b > 0$ y descendente hacia la derecha si es $b < 0$. Asimismo la recta tiene más pendiente cuanto mayor es b.

En el ejemplo que viene por defecto en el Excel de modelización de tasas de sensibilidad se dan 9 valores de %S a lo largo de 9 años de estudio. Como se puede apreciar, hay tendencia estadísticamente significativa ($P = 0,0011$) a la disminución de sensibilidad a lo largo de los 9 años y se ha encontrado un modelo lineal con un 80% de capacidad predictiva. El modelo se ajusta a la ecuación $Y (\%S) = (-1,23 \times n^\circ \text{ año}) + 83,16$. Dicho de otra manera, cada año baja el %S un 1,23% (pendiente o coeficiente de regresión) respecto al año anterior. No sabemos cuanto es esa disminución en la población, pero tenemos el 95% de confianza en que la disminución anual se encuentre entre 0,68 y el 1,78%.

Sólo hay que sustituir los valores de las tasas de sensibilidad (%S) del ejemplo por los de la muestra a considerar.

8. OBTENCIÓN Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

- IC95% de los %S a los diferentes antibióticos estudiados.
- Significación estadística ($P \leq 0,05$) de la diferencia entre los %S de años sucesivos
- Magnitud de la diferencia entre los %S de años sucesivos, expresada por el IC95% de la diferencia
- Significación estadística ($P \leq 0,05$) de la tendencia de los %S a lo largo de un periodo de tiempo medido en años, según modelo de regresión lineal
- Capacidad de predicción del modelo lineal con su IC95%
- Ecuación de la recta. Pendiente o coeficiente de regresión con su IC95%

9. RESPONSABILIDADES

No procede.

| | | | |
|---|--|---------------|---------------|
| Servicio / Unidad de Microbiología Hospital..... | Métodos estadísticos aplicados en el informe de sensibilidad acumulada a los antimicrobianos | PNT-IASA-2 | |
| | | Edición N° 01 | Página 5 de 5 |

10. ANOTACIONES AL PROCEDIMIENTO

No procede.

11. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Este procedimiento permite manejar los métodos estadísticos más utilizados en el análisis de la sensibilidad acumulada a los antibióticos. Sin embargo, es necesario tener en cuenta ciertas limitaciones:

- Da por hecho que la muestra microbiana estudiada es representativa de la población bacteriana del ámbito donde se realiza el estudio. Los aislados procesados por el laboratorio de microbiología reflejan las características de la muestra de pacientes estudiada, de los criterios de recogida de muestras y de los protocolos de identificación y estudio de la sensibilidad a los antibióticos. Se debe considerar si las estimaciones muestrales de los %S pueden generalizarse.
- La existencia de posibles sesgos de selección no debe descartarse y se deben tener en cuenta a la hora de que la evolución de las tasas de sensibilidad observadas influyan en las guías de tratamiento empírico y en la política de antibióticos.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Agresti A, Coull BA. Approximate is better than "exact" for interval estimation of binomial proportions. *Am Stat* 1998; 52: 119-126.
2. Argimón JM y Jiménez J. Papel de la estadística. En: Argimón JM y Jiménez J. *Métodos de investigación clínica y epidemiológica*. Madrid: Elsevier, 2004; 249-261.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline. Fourth Edition*. CLSI document M39-A4. CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA, 2014.
4. Dawson GF. Propiedades de los intervalos de confianza. En: Dawson GF. *Interpretación fácil de la bioestadística. La conexión entre la evidencia y las decisiones médicas*. Barcelona: Elsevier, 2009; 113-116.
5. Newcombe RG. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat Med* 1998; 17: 857-872.
6. Newcombe RG. Interval estimation for the difference between independent proportions: comparison of eleven methods. *Stat Med* 1998; 17: 873-890.
7. Prieto Valiente L y Herranz Tejedor I. Regresión lineal. En: Prieto Valiente L y Herranz Tejedor I. *Bioestadística sin dificultades matemáticas*. Madrid: Díaz de Santos, 2010; 265-283