

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-2/16

En el Análisis de Resultados del presente control se comentan los resultados obtenidos en el estudio bacteriológico de la muestra enviada para control externo. Se trató de un líofilo preparado por el Programa de Control de Calidad Externo SEIMC (Programa CCS) a partir de una cepa bacteriana de reserva que había sido debidamente almacenada y, cuyo estudio, fue realizado por laboratorios externos expertos que actuaron de referencia para el Programa CCS. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de 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 varón de 91 años de edad, portador de sonda urinaria permanente. Como antecedentes de interés, presentaba una hipertrofia benigna de próstata con obstrucción secundaria de vía urinaria. Fue llevado a Urgencias de su hospital por presentar fiebre de 24 h de evolución y deterioro de su estado general, con desconexión del medio, agitación y desorientación témporo-espacial. A la exploración, presentaba regular estado general, palidez muco-cutánea y sequedad de piel y mucosas. La temperatura era de 38,6°C y la auscultación pulmonar mostraba crepitantes bibasales. El sedimento de orina indicaba existencia de leucocituria y bacteriuria intensa. Se tomó una muestra de orina y dos muestras de hemocultivos que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, creciendo en todas las muestras la bacteria 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

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

La cepa fue identificada como *Escherichia coli* (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 microdilución (panel Sensititre® ENN2F, TREK Diagnostic) 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 enterobacterias para la categorización de los resultados.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.

Antibiótico	CMI (µg/ml)	Categorización ^a	
		CLSI	EUCAST
Ampicilina	>16	R	R
Amoxicilina-clavulanato	8/4	S	NI
Piperacilina-tazobactam	≤8/4	S	S
Cefotaxima	>32	R	R
Ceftazidima	1	S	S
Cefepima	4	SDD	R
Imipenem	≤1	S	S
Meropenem	≤1	S	S
Ciprofloxacino	0,5	S	S
Cotrimoxazol	>4/76	R	R
Gentamicina	≤1	S	S
Tobramicina	≤2	S	S
Amikacina	≤4	S	S
Fosfomicina	≤32	S	S

^aS: sensible, SDD: sensible dependiente de la dosis, R: resistente, NI: no interpreta.

En esta tabla no se incluye la categorización de amoxicilina-clavulánico por criterios EUCAST, debido a que el método empleado utiliza una concentración variable de inhibidor.

Además, la cepa control enviada poseía una característica especial que también era objeto del control. Así, dicha cepa era productora de una beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) del tipo CTX-M-9 (valor asignado característica especial: cepa productora de BLEE).

PARTICIPACIÓN

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

La cepa problema fue enviada a los 230 centros inscritos en Bacteriología, de los que 211 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 91,7%, superior al del último control (84,8%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*E. coli*). Como se puede observar en la tabla 2, todos los centros excepto dos (209, el 99,0%) identificaron correctamente el género y la especie. Estos dos resultados discrepantes presumiblemente fueron respuestas cruzadas con el control mensual BX-julio-16, que se trataba de una cepa de *Propionibacterium acnes*.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Escherichia coli</i>	209	99,0
Bacilo grampositivo diferomorfo	1	0,5
<i>Propionibacterium acnes</i>	1	0,5
Total	211	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 78,2% de los centros (165) emplearon técnicas comerciales para la identificación, de los que 146 (69,2%) las usaron como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por el 25,1% de los participantes, siendo empleada como único método diagnóstico en el 20,4% de las ocasiones. Las pruebas manuales sólo fueron usadas por 10 laboratorios (4,7%), mientras que únicamente un laboratorio (0,5%) identificó la cepa mediante un estudio de secuenciación. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	146	69,2
Espectrometría de masas	43	20,4
Comercial + espectrometría de masas	10	4,7
Manual + comercial	8	3,8
Manual	2	0,9
Comercial + aglutinación	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
Total	211	100,0

Los sistemas comerciales utilizados en la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron los paneles de MicroScan (85 centros), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (52 centros) y del Maldi-Tof de Bruker (33 centros). Todos estos sistemas comerciales obtuvieron unos excelentes resultados. El único resultado discrepante obtenido con el MALDI-TOF de un Bruker correspondía, como ya se ha comentado, al centro que respondió *P. acnes*.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MicroScan	85	40,9	100,0
VITEK® 2	52	25,0	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	33	15,9	97,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	17	8,2	100,0
Phoenix™	8	3,8	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	5	2,4	100,0
Agar CPS® (bioMérieux)	2	0,9	100,0
API® 20 E	1	0,5	100,0
ID 32 GN	1	0,5	100,0
API® no especificado	1	0,5	100,0
Agar CHROMagar® (Becton Dickinson)	1	0,5	100,0
No especifica	2	0,9	100,0
Total	208	100,0	99,5

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 209 centros que realizaron la identificación correcta de especie (*E. coli*). De ellos 2 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 207 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 197 (95,2%), empleándose como método único en el 78,3% de los casos. Hubo 39 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (18,9%), de los que sólo 10 (4,8%) lo hicieron de forma única. Por último, 10 centros (4,8%) emplearon las tiras de gradiente de concentración, en todos los casos combinadas con otros métodos de sensibilidad (tabla 5).

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	162	78,3
Microdilución + disco-placa	25	12,1
Disco-placa	10	4,8
Microdilución + tiras gradiente concentración	6	2,9

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

Microdilución + disco-placa + tiras gradiente concentración	4	1,9
Total	207	100,0

Sobre un total de 197 respuestas, los sistemas automatizados más utilizados para la obtención de la CMI mediante el método de microdilución fueron el equipo MicroScan (52,3%), seguido del VITEK® 2 (38,1%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas para la obtención de la CMI.

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	103	52,3
VITEK® 2 (bioMérieux)	75	38,1
Phoenix™ (Becton Dickinson)	10	5,1
Wider® (Soria Melguizo)	8	4,0
Sensititre™ (Thermo Scientific)	1	0,5
Total	197	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, se tenía que informar qué criterios de puntos de corte habían utilizado para la interpretación de su antibiograma.

Así, de los 207 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación de *E. coli*, 102 (49,2%) utilizaron los criterios del CLSI, 80 (38,7%) los del EUCAST, mientras que 20 (9,6%) utilizaron una combinación de ambos comités, y 3 (1,5%) se basaron en la bibliografía. Por último, hubo 2 centros (1,0%) que no aportaron información al respecto. Estos datos se muestran en la tabla 7.

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

Criterio	Número	%
CLSI	102	49,2
EUCAST	80	38,7
CLSI + EUCAST	20	9,6
Bibliografía	3	1,5
No informan	2	1,0
Total	207	100,0

En total, se han recibido resultados correspondientes a 39 antibióticos diferentes. 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.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Categorización ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Ampicilina	156	0	0	155 (99,4)	1 (0,6)
Amoxicilina-clavulanato	187	70 (37,4)	68 (36,4)	49 (26,2)	0
Piperacilina-tazobactam	93	85 (91,4)	3 (3,2)	5 (5,4)	0
Cefuroxima	108	1 (0,9)	0	107 (99,1)	0
Cefoxitina	80	73 (91,3)	0	7 (8,7)	0
Cefotaxima	177	2 (1,1)	4 (2,3)	171 (96,6)	0
Ceftazidima	106	30 (28,3)	11 (10,4)	64 (60,4)	1 (0,9)
Cefepima	99	7 (7,1)	12 (12,1)	80 (80,8)	0
Ertapenem	115	115 (100,0)	0	0	0
Imipenem	168	166 (98,8)	0	2 (1,2)	0
Gentamicina	188	185 (98,4)	3 (1,6)	0	0
Tobramicina	63	63 (100,0)	0	0	0
Amikacina	83	81 (97,6)	2 (2,4)	0	0
Ácido nalidíxico	59	0	0	59 (100,0)	0
Ciprofloxacino	191	178 (93,2)	10 (5,2)	3 (1,6)	0
Cotrimoxazol	148	3 (2,0)	0	145 (98,0)	0
Nitrofurantoína	57	57 (100,0)	0	0	0
Fosfomicina	104	102 (98,0)	1 (1,0)	1 (1,0)	0

^aLos 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 y sin efectos de comparación. En el antibiograma se consideran resultados **NO Aceptables** los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente). Los errores menores y mayores, siempre que no supongan un cambio importante en el tratamiento del microorganismo estudiado, se consideran aceptables.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado para la mayoría de los antibióticos. La principal discrepancia entre los centros se obtuvo con la amoxicilina-

clavulanato. Así, la cepa presentaba una CMI a la amoxicilina-clavulanato de 8/4 µg/mL, en el límite superior de sensibilidad, tanto del CLSI como del EUCAST; mientras que, una dilución mayor ya sería intermedia para CLSI y resistente según EUCAST.

CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Como ya se ha comentado, la cepa de *E. coli* era portadora de una BLEE del tipo CTX-M-9. Los comentarios acerca del mecanismo de resistencia de la cepa a los β-lactámicos se han resumido en la tabla 9. En esta ocasión, la gran mayoría de los participantes (188, el 90,8%) informaron correctamente que la cepa del control era productora de BLEE, si bien tres de ellos mencionaron que, además, era también portadora de AmpC.

Tabla 9. Detección de la característica fenotípica especial.

Mecanismo	Número	%
BLEE	185	89,4
BLEE + AmpC	3	1,5
AmpC	1	0,5
No informan	18	8,6
Total	207	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 211 participantes que enviaron hoja de respuesta se obtuvieron los siguientes datos: 208 laboratorios (98,6%) afirmaron no haberlo utilizado, mientras que los 3 restantes (1,4%) declararon haberlo requerido.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, los principales comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas. Así, 22 centros desaconsejaban el tratamiento con quinolonas al presentar resistencia al ácido nalidíxico, mientras que 16 centros recomendaban el tratamiento con algún carbapenémico.

Por último, dos participantes aconsejaron medidas de aislamiento del paciente.

Nota.- Todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar, así como de lectura interpretada de antibiograma, no serán objeto de evaluación por parte del Programa CCS.

Madrid, 11 de junio de 2017

Concepción Gimeno Cardona

Coordinadora 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.

Nota: Las actividades subcontratadas por el Programa CCS son: el transporte de las muestras, el valor asignado, y los estudios de homogeneidad y estabilidad. Si en un determinado momento, se requiere la subcontratación de otras actividades diferentes a las indicadas anteriormente, serán debidamente informadas.

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

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepantaa. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org