

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-4/17

En el Análisis de Resultados del presente control se comentan los resultados obtenidos en el estudio bacteriológico de la muestra enviada para control externo. Se trató de un liófilo preparado por el Programa de Control de Calidad Externo SEIMC (Programa CCS) a partir de una cepa bacteriana de reserva que había sido debidamente almacenada y, cuyo estudio, fue realizado por laboratorios externos expertos que actuaron de referencia para el Programa CCS. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de las muestras a través de ensayos realizados tras la preparación de los liófilos y tras su envío, asegurando así la validez de las mismas.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, que emplearon métodos con sensibilidad y especificidad adecuadas para cada determinación. Además, la identificación fue refrendada mediante estudio de secuenciación. Estos laboratorios expertos colaboran con el Programa CCS mediante la firma de acuerdos.

Este Análisis de Resultados ha sido elaborado por especialistas en Microbiología y Parasitología.

La confidencialidad de todos los resultados está asegurada a través de la firma de compromisos de confidencialidad por parte de todo el personal del Programa CCS y de sus colaboradores.

INTRODUCCIÓN

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa. La historia clínica correspondía a la de un paciente de 71 años, hipertenso y diagnosticado de diabetes insulínica, que era remitido a la consulta de Dermatología para seguimiento de una herida que desde hacía casi mes y medio presentaba una evolución tórpida en miembro inferior derecho. A la exploración, el paciente presentaba lesiones cutáneas asociadas a dificultades del retorno venoso en ambas piernas. El área de alrededor de la herida actual presentaba un aspecto eritematoso, edematizado e inflamado y doloroso a la palpación; la lesión estaba abscesificada y se observaba un exudado purulento. El paciente relataba que había sufrido un pequeño traumatismo con un objeto punzante y que éste fue el desencadenante de todo el proceso. Había recibido tratamiento con antibiótico tópico (ácido fusídico) y sistémico (amoxicilina-clavulánico en régimen corto de cinco días) sin obtener ninguna mejoría. No se objetivaron adenopatías ni datos sugestivos de afectación sistémica. Se tomaron muestras del exudado de la herida y biopsia de la lesión y se remitieron al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, de hongos y de micobacterias. A las 24 h de incubación creció en los medios habituales de cultivo la bacteria que era objeto de este control.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el **estudio de sensibilidad** de la cepa remitida. Así mismo, podían hacerse los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que se estimasen oportunos.

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Serratia odorifera* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante pruebas bioquímicas (tarjeta VITEK® 2, bioMérieux), y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante estudio en disco-placa y por microdilución en caldo (panel ENN2F de Sensititre®, Thermo Scientific) 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 la familia *Enterobacteriaceae* para la interpretación de los resultados.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		CLSI	EUCAST
Piperacilina / tazobactam	≤8/4	S	S
Cefuroxima	-	R	R
Cefotaxima	≤0,5	S	S
Cefepima	≤1	S	S
Ciprofloxacino	≤0,12	S	S
Cotrimoxazol	≤2/38	S	S
Gentamicina	≤1	S	S
Tobramicina	≤2	S	S

^aS: sensible.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 232 centros inscritos en Bacteriología, de los que 203 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 87,5%, similar al del último control (90,9%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*S. odorifera*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros participantes (197, el 97,5%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Serratia odorifera</i>	197	97,0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	1,5
<i>Serratia liquefaciens</i>	2	1,0
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1	0,5
Total	203	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 64,5% de los centros (131) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 108 (53,2%) las usaron como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por el 43,9% de los participantes (89 centros), siendo empleada como único método diagnóstico en el 34,0% de las ocasiones. Las pruebas manuales sólo fueron usadas por 5 laboratorios (2,5%), mientras que únicamente un laboratorio (0,5%) identificó la cepa mediante un estudio de secuenciación. Por último, un centro (0,5%) envió la cepa a un laboratorio externo, no aportando información al respecto. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	108	53,2
Espectrometría de masas	69	34,0
Comercial + espectrometría de masas	20	9,8
Manual + comercial	3	1,5
Manual + aglutinación	1	0,5
Manual + secuenciación	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	203	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (59 centros), seguido de los paneles MicroScan de Beckman Coulter (53 centros) y de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (43 centros), obteniendo todos ellos un buen índice de aciertos.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	59	29,5	96,6
MicroScan (Beckman Coulter)	53	26,5	92,4
VITEK® 2 (bioMérieux)	43	21,5	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	24	12,0	100,0
API® 20 E (bioMérieux)	9	4,5	100,0
Phoenix™ (Becton Dickinson)	5	2,5	100,0
BBL™ Crystal™ (Becton Dickinson)	3	1,5	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	3	1,5	100,0
No especifica	1	0,5	100,0
Total	200	100,0	97,0

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos ellos obtuvieron un porcentaje de aciertos elevado para la identificación de *S. odorífera*, con algunos errores ocasionales.

Tabla 5. Resultados de identificación de *S. odorífera* con los sistemas comerciales más empleados^a.

Sistema	Número	<i>Serratia odorífera</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
MALDI-TOF (Bruker)	59	57 (96,6)	1 (1,7)	0	1 (1,7)
MicroScan	53	49 (92,4)	2 (3,8)	2 (3,8)	0
VITEK® 2	43	43 (100,0)	0	0	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	24	24 (100,0)	0	0	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada sistema comercial.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 199 centros que realizaron una identificación mínima de género *Serratia*. Todos ellos realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 199 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 190 (95,5%), empleándose como método único en el 84,5% de los casos. Hubo 27 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (13,6%), de los que 8 (4,0%) lo

hicieron de forma única. Por último, fueron solamente 5 (2,5%) los centros que emplearon las tiras de gradiente de concentración, en todos los casos combinadas con otro método. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	168	84,5
Microdilución + disco-placa	17	8,5
Disco-placa	8	4,0
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	3	1,5
Microdilución + disco-placa + tiras gradiente concentración	2	1,0
No informa	1	0,5
Total	199	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante los métodos de microdilución fueron las placas de MicroScan (53,2%), seguidas de las tarjetas VITEK® 2 (37,8%). El conjunto de las marcas que se emplearon se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	100	53,2
VITEK® 2 (bioMérieux)	71	37,8
Phoenix™ (Becton Dickinson)	9	4,8
Wider® (Soria Melguizo)	6	3,2
Sensititre™ (Thermo Scientific)	1	0,5
Preparación propia	1	0,5
Total	188	100,0

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Se solicitó a los participantes que categorizaran tal cual el valor obtenido en el antibiograma (halo de inhibición o CMI) y, en el caso de que quisieran realizar una lectura interpretada de los resultados obtenidos para algunos antibióticos que no se correspondiera con el patrón de resistencia intrínseca del microorganismo estudiado, que ésta la consignaran en el apartado de comentarios y no en la tabla de respuesta.

Así, de los 199 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Serratia*, 116 (58,3%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 80 (40,2%) los del CLSI, mientras que los 3 restantes (1,5%) se basaron en la bibliografía (tabla 8).

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

Marca	Número	%
EUCAST	116	58,3
CLSI	80	40,2
Bibliografía	3	1,5
Total	199	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 han recibido resultados correspondientes a 38 antibióticos diferentes, pero tan sólo 17 fueron informados por 30 o más participantes.

Los antibióticos informados por los participantes para los que no se dispone de valor asignado no son evaluados por parte del Programa CCS, por lo que aparecen en este AR sólo a modo informativo, sin efectos de comparación.

En el estudio de sensibilidad, el Programa CCS considera como resultados **NO aceptables**, los **errores máximos** de categorización (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente).

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Nº	Categorización ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Ampicilina	99	26 (26,3)	1 (1,0)	71 (71,7)	1 (1,0)
Amoxicilina-clavulanato	147	46 (31,3)	5 (3,4)	95 (64,6)	1 (0,7)
Piperacilina-tazobactam	123	120 (97,6)	1 (0,8)	2 (1,6)	0
Cefuroxima	97	0	1 (1,0)	96 (99,0)	0
Cefoxitina	45	18 (40,0)	6 (13,3)	21 (46,7)	0
Cefotaxima	123	120 (97,6)	0	3 (2,4)	0
Ceftazidima	90	88 (97,8)	0	2 (2,2)	0
Cefepima	124	123 (99,2)	1 (0,8)	0	0
Ertapenem	96	95 (99,0)	0	1 (1,0)	0

Imipenem	150	148 (98,7)	2 (1,3)	0	0
Meropenem	36	36 (100,0)	0	0	0
Gentamicina	182	181 (99,5)	1 (0,5)	0	0
Tobramicina	64	59 (92,2)	3 (4,7)	2 (3,1)	0
Amikacina	112	110 (98,2)	2 (1,8)	0	0
Ciprofloxacino	193	192 (99,5)	0	1 (0,5)	0
Levofloxacino	30	29 (96,7)	0	1 (3,3)	0
Cotrimoxazol	164	163 (99,4)	1 (0,6)	0	0
Tigeciclina	62	53 (85,5)	9 (14,5)	0	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia para todos los antibióticos, con algunas discrepancias que afectan especialmente a la ampicilina y la amoxicilina-clavulánico. Estas discrepancias pueden deberse a que, si bien la cepa de *S. odorifera* era sensible *in vitro* a estos dos compuestos, *Serratia marcescens* presenta una beta-lactamasa cromosómica inducible de clase C, por lo que asimilaron esta circunstancia a la cepa de *Serratia odorifera* remitida; aunque también en algún estudio se ha puesto de manifiesto que la mayor parte de las cepas de *S. odorifera* son sensibles *in vitro* a la amoxicilina, amoxicilina-clavulánico y resistentes a cefuroxima (Stock I *et al.* Natural antimicrobial susceptibilities of strains of 'unusual' *Serratia* species: *S. ficaria*, *S. fonticola*, *S. odorifera*, *S. plymuthica* and *S. rubidaea*. J Antimicrob Chemother. 2003 Apr;51(4):865-85). Dadas las dificultades para la interpretación de estos dos antibióticos, no se consideraron objeto de evaluación por parte de Programa, por lo que no se aporta valor asignado para los mismos.

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 203 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 196 laboratorios (96,5%) afirmaron no haberlo utilizado, 4 centros (2,0%) declararon haberlo requerido y otros 2 centros (1,0%) lo utilizaron parcialmente. Por último, hubo un centro (0,5%) que envió su respuesta de forma manual que no informó de este dato.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (53 centros) se refería a que el género *Serratia* presentaba una beta-lactamasa cromosómica inducible, por lo que interpretaron la ampicilina y amoxicilina-clavulánico como resistentes. Así mismo, añadían que no estaba recomendado el tratamiento en monoterapia con cefalosporinas de 3ª generación por el desarrollo de resistencias. Las recomendaciones terapéuticas mayoritarias fueron el tratamiento con una carbapenema, o bien, ciprofloxacino o cotrimoxazol por vía oral.

Por último, tres centros comentaron que la cepa presentaba un olor característico a regaliz o patata.

Madrid, 3 de mayo de 2018



C/ Agustín de Betancourt, 13
Entreplanta - 28003 Madrid
NIF: G-78387057

Concepción Gimeno Cardona

Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC

Nota: todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar no son objeto de evaluación por parte del Programa CCS, por lo que este aspecto está fuera del alcance de la acreditación por ENAC.

Nota: las actividades subcontratadas por el Programa CCS son el transporte de las muestras, el valor asignado (consenso de expertos), y los estudios de homogeneidad y estabilidad de las muestras provenientes de cada uno de los lotes, siguiendo una estricta programación de tareas. Si en un determinado momento se necesita subcontratar otras actividades diferentes a las indicadas se informará debidamente.

Cumpliendo con los requerimientos de la norma ISO 17043, las actividades subcontratadas que afectan al valor asignado y a los estudios de homogeneidad son realizadas por colaboradores externos, acreditados por la norma ISO 15189 o evaluados previamente por el Programa CCS según los criterios de la norma ISO 15189.

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