

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-4/18

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 68 años, fumador, hipertenso y diabético tipo II, que hacía tres meses que había recibido el alta hospitalaria tras haberle colocado dos *stents* por un cuadro de cardiopatía isquémica. Desde entonces había acudido a consulta en un par de ocasiones por sendos episodios de fiebre sin filiar. En el episodio actual, acudía al Servicio de Urgencias por un nuevo episodio de mal estar general, fiebre de 38,5°C, escalofríos y sudoración profusa sin dolor torácico, con lo que se procedió a su ingreso. Analíticamente presentaba una leucocitosis con 16.000 leucocitos (87% neutrófilos) y proteína C reactiva de 56 mg/L. Se realizó un ecocardiograma transesofágico en el que se objetivó una vegetación en la cara auricular de la válvula mitral, en el velo septal de 10 x 12 mm. Se extrajeron tres muestras de hemocultivos seriados que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y se administró tratamiento antibiótico empírico de amplio espectro. En las tres series de hemocultivos seriado se aisló, a las 18 horas de incubación, el microorganismo 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 *Staphylococcus schleiferi* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas, y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante una microdilución en caldo comercial y se muestran en la tabla 1. Como siempre, esta lista se incluye a título meramente informativo, como término de comparación para los participantes, sin que suponga una recomendación de uso en el tratamiento de las infecciones por esta bacteria. Para la interpretación de los resultados, se emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes al género *Staphylococcus*.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		EUCAST (V7.0-2017)	CLSI (M45-A3-2015)
Penicilina	≤0,03	S	S
Amoxicilina/clavulánico	≤4/2	S	NI
Oxacilina	≤0,25	S	S
Eritromicina	≤0,5	S	S
Clindamicina	≤0,25	S	S
Gentamicina	≤1	S	S
Tobramicina	≤1	S	S
Tetraciclina	≤1	S	S
Cotrimoxazol	≤1/19	S	S
Rifampicina	≤0,5	S	S
Vancomicina	2	S	S
Fosfomicina	≤32	S	NI
Mupirocina	≤4	S	NI

<sup>a</sup>S: sensible, NI: no interpretada.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 227 centros inscritos al control de Bacteriología trimestral, de los que 204 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 89,9%, ligeramente inferior al del último control (92,5%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*S. schleiferi*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros participantes (195, el 95,6%) identificaron correctamente la especie de la cepa control.

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

Identificación	Número	%
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	195	95,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	1,4
Estafilococo coagulasa negativa	1	0,5
<i>Morganella morganii</i>	1	0,5
<i>Proteus hauseri</i>	1	0,5
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus carnosus</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	0,5
Total	204	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 60,3% de los centros (123), emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 91 (44,6%) las usaron como único método. Respecto a la espectrometría de masas, fue informada por el 47,1% de los participantes, siendo empleada como único método diagnóstico en el 36,3% de las ocasiones. La aglutinación frente a antígenos de la pared de *Staphylococcus aureus* fue empleada por el 6,4% de los participantes, mientras que un único centro (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	91	44,6
Espectrometría de masas	74	36,3
Comercial + espectrometría de masas	19	9,3
Comercial + aglutinación	7	3,4
Manual + comercial	5	2,5
Espectrometría de masas + aglutinación	3	1,4
Aglutinación	1	0,5

Manual + aglutinación	1	0,5
Manual + comercial + aglutinación	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	204	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (65 centros), seguido de los paneles MicroScan de Beckman Coulter (50 centros) y de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (44 centros).

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	65	32,5	98,5
MicroScan (Beckman Coulter)	50	25,0	94,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	44	22,0	97,7
MALDI-TOF (VITEK® MS)	28	14,0	100,0
API® STAPH (bioMérieux)	4	2,0	100,0
Phoenix™ (Becton Dickinson)	4	2,0	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	4	2,0	100,0
BBL™ Crystal™ (Becton Dickinson)	1	0,5	0,0
Total	200	100,0	97,0

La capacidad de los sistemas comerciales empleados para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos ellos obtuvieron un porcentaje de aciertos elevado para la identificación de *S. schleiferi*, con algunos errores ocasionales. Como ha sucedido en otros controles, ha habido probablemente dos respuestas cruzadas con la cepa del control mensual de enero BX-1/19 (*Proteus vulgaris*).

**Tabla 5. Resultados de identificación de *S. schleiferi* con los sistemas comerciales más empleados<sup>a</sup>.**

Sistema	Número	<i>S. schleiferi</i>	Estafilococo coagulasa negativa	<i>Proteus hauseri</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>S. carnosus</i>	<i>S. lugdunensis</i>
MALDI-TOF (Bruker)	65	64 (98,5)	0	0	1 (1,5)	0	0
MicroScan (Beckman)	50	47 (94,0)	1 (2,0)	1 (2,0)	0	0	1 (2,0)
VITEK® 2 (bioMérieux)	44	43 (97,7)	0	0	0	1 (2,3)	0
MALDI-TOF VITEK® MS	28	28 (100,0)	0	0	0	0	0

<sup>a</sup>Los 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 201 centros que realizaron una identificación mínima de género *Staphylococcus*. Todos ellos realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 201 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 193 (96,0%), empleándose como método único en el 84,6% de los casos. Hubo 22 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (10,9%), de los que 5 (2,5%) lo hicieron de forma única. Por último, fueron 14 (7,0%) los 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	170	84,6
Microdilución + disco-placa	12	6,0
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	9	4,5
Disco-placa	5	2,5
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	3	1,4
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	2	1,0
Total	201	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante microdilución fueron los paneles de MicroScan (53,1%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (37,3%). 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)	104	53,1
VITEK® 2 (bioMérieux)	73	37,3
Phoenix™ (Becton Dickinson)	9	4,6
Wider® (Soria Melguizo)	5	2,5
Sensititre™ (Thermo Fisher)	1	0,5
No específica <sup>a</sup>	4	2,0
Total	196	100,0

<sup>a</sup>Métodos: tiras de gradiente de concentración (3), microdilución (1).

## 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 201 laboratorios que realizaron un antibiograma con la identificación mínima de género *Staphylococcus*, 138 (68,6%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 61 (30,4%) los del CLSI, mientras que los 2 restantes (1,0%) se basaron en la bibliografía (tabla 8).

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

Marca	Número	%
EUCAST	138	68,6
CLSI	61	30,4
Bibliografía	2	1,0
Total	201	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 45 antibióticos diferentes, pero tan sólo 20 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 <sup>a</sup>				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Penicilina	143	133 (93,0)	-	10 (7,0)	-	-
Ampicilina	31	28 (90,3)	-	3 (9,7)	-	-
Amoxicilina-clavulanato	66	65 (98,5)	-	1 (1,5)	-	-
Oxacilina	157	148 (94,3)	-	9 (5,7)	-	-
Eritromicina	132	128 (97,0)	4 (3,0)	-	-	-
Clindamicina	166	153 (92,2)	9 (5,4)	4 (2,4)	-	-
Ciprofloxacino	79	79 (100,0)	-	-	-	-

Levofloxacino	133	132 (99,3)	-	1 (0,7)	-	-
Tetraciclina	33	33 (100,0)	-	-	-	-
Gentamicina	167	167 (100,0)	-	-	-	-
Tobramicina	74	74 (100,0)	-	-	-	-
Cotrimoxazol	137	137 (100,0)	-	-	-	-
Rifampicina	89	81 (91,0)	2 (2,2)	-	6 (6,8)	-
Vancomicina	186	186 (100,0)	-	-	-	-
Teicoplanina	109	109 (100,0)	-	-	-	-
Linezolid	144	144 (100,0)	-	-	-	-
Daptomicina	147	146 (99,3)	-	1 (0,7)	-	-
Tigeciclina	32	32 (100,0)	-	-	-	-
Fosfomicina	71	71 (100,0)	-	-	-	-
Ácido fusídico	32	32 (100,0)	-	-	-	-

<sup>a</sup>Los 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 algunos errores anecdóticos.

## 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 204 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 198 laboratorios (97,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 4 centros (2,0%) declararon el haberlo requerido y los 2 centros restantes (1,0%) lo utilizaron parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (12 centros) se refería a que la cepa control era  $\beta$ -lactamasa negativa. Diez centros realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con cloxacilina asociada a gentamicina o daptomicina.

Nueve centros señalaron que la coagulasa en porta (aglutinación de látex) había sido positiva. Seis centros especificaron la subespecie de la cepa, bien *S. schleiferi* subsp. *schleiferi* (5), o bien *S. schleiferi* subsp. *coagulans* (1). Por último, dos participantes señalaron explícitamente que el paciente había desarrollado una endocarditis por *S. schleiferi*.

En cuanto a la lectura interpretada del antibiograma, dos centros comentaron que, si bien la cepa era sensible a la penicilina, dada la alta proporción de estafilococos productores de penicilinasas y al no disponer de un método

satisfactorio para su detección en estafilococos coagulasa negativa, habían informado la penicilina como resistente. Por último, un centro especificó que para la interpretación de la resistencia a la metilina había utilizado los puntos de corte propuestos para *Staphylococcus pseudintermedius* ( $\leq 0,25$  S y  $\geq 0,5$  R).

Madrid, 24 de abril de 2019



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

Concepción Gimeno Cardona

**Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC**

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

**Nota:** las actividades subcontratadas por el Programa CCS son la tipificación de las cepas, necesaria para que desde el Programa se establezca el valor asignado a partir del consenso de resultados de dos laboratorios expertos, y los estudios de homogeneidad y estabilidad de las muestras provenientes de cada uno de los lotes, siguiendo una estricta programación de tareas. Si en un determinado momento se necesita subcontratar otras actividades diferentes a las indicadas se informará debidamente.

Cumpliendo con los requerimientos de la norma ISO/IEC 17043, las actividades subcontratadas que afectan a los resultados de las pruebas solicitadas y a los estudios de homogeneidad y estabilidad son realizadas por colaboradores externos, acreditados por la norma ISO 15189 o evaluados previamente por el Programa CCS según los criterios de la norma ISO 15189.

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