

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-2/19

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 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 un paciente varón de 46 años, remitido por el médico de familia a su hospital de área por un cuadro de gastroenteritis aguda. El paciente presentaba como antecedentes clínicos de interés una pérdida de peso de aproximadamente 10 kg en los últimos 3 meses, siendo exadicto a drogas por vía parenteral y encontrándose en ese momento en un programa de deshabituación con metadona. Diagnosticado de infección por VIH desde hace 15 años, presentaba antecedentes de mal cumplimiento de terapia antirretroviral. Acudió al Servicio de Urgencias de su hospital presentando un cuadro de 48 horas de evolución de deposiciones inicialmente acuosas, de hasta 7 episodios al día, que se fueron convirtiendo en mucosas y sanguinolentas en las últimas 24 h, sin vómitos ni fiebre. En el examen físico el paciente se encontraba consciente, orientado, eupneico, con leves signos de deshidratación y dolor abdominal difuso a la palpación. Se recogió una muestra de heces, que fue remitida al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico, aislándose a las 24 horas 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

La cepa fue identificada como *Shigella flexneri* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF), pruebas bioquímicas

manuales y aglutinación en porta con antisueros específicos de esta especie, y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante estudio en disco-placa, tiras de gradiente de concentración y por un panel comercial de microdilución en caldo 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 al orden *Enterobacterales* para la interpretación de los resultados.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		EUCAST (V 9.0-2019)	CLSI (M100S28-2018)
Ampicilina	-	R	R
Cefotaxima	≤0,5	S	S
Ciprofloxacino	>2	R	R
Cotrimoxazol	0,19	S	S

^aS: sensible, R: resistente.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 229 centros inscritos en Bacteriología, de los que 218 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 95,2%, similar al del último control (93,9%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como válida la identificación mínima de género *Shigella*, y como respuesta óptima la identificación correcta de género y especie (*S. flexneri*). Como se puede observar en la tabla 2, la mayoría de los centros participantes (137 el 62,8%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control, mientras que un 25,7% de los mismos informaron género *Shigella* y otro 4,6% de los participantes respondieron otra especie de *Shigella*, por lo que el porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 93,1%.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Shigella flexneri</i>	137	62,8
Género <i>Shigella</i>	56	25,7

<i>Escherichia coli</i>	7	3,2
<i>Shigella dysenteriae</i>	6	2,8
<i>Escherichia coli</i> enteroinvasivo	5	2,3
<i>Shigella sonnei</i>	4	1,8
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2	0,9
<i>Prevotella melaninogenica</i>	1	0,5
Total	218	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 82,6% de los centros (180), emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los cuales 82 (37,6%) las usaron como único método. La aglutinación frente a especies del género *Shigella* se realizó por el 44,5% de los participantes (97). En esta ocasión, la espectrometría de masas sólo fue informada por el 22,5% de los participantes (49), ya que esta técnica no permite una adecuada diferenciación entre el género *Shigella* con *Escherichia coli* enteroinvasivo. En cuanto a las técnicas manuales, fueron empleadas por el 3,7% de las ocasiones, mientras que únicamente 2 centros (0,9%) identificaron la cepa mediante un estudio de secuenciación. Por último, hubo 3 centros (1,3%) que no informaron de esta premisa. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	82	37,6
Comercial + aglutinación	67	30,7
Espectrometría de masas	18	8,2
Comercial + espectrometría de masas	10	4,6
Comercial + espectrometría de masas + aglutinación	9	4,1
Espectrometría de masas + aglutinación	8	3,6
Manual + comercial + aglutinación	4	1,8
Aglutinación	3	1,3
Espectrometría de masas + aglutinación + PCR	2	0,9
Manual + comercial	2	0,9
Comercial + aglutinación + PCR	1	0,5
Comercial + espectrometría de masas + aglutinación + inmunocromatografía	1	0,5

Comercial + espectrometría de masas + PCR	1	0,5
Comercial + inmunocromatografía	1	0,5
Comercial + PCR	1	0,5
Comercial + secuenciación + aglutinación	1	0,5
Manual	1	0,5
Manual + aglutinación + PCR	1	0,5
PCR	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	3	1,3
Total	218	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron los paneles MicroScan de Beckman Coulter (80 centros), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (70 centros).

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MicroScan (BeckmanCoulter)	80	38,1	63,8
VITEK® 2 (bioMérieux)	70	33,3	54,3
MALDI-TOF (Bruker)	25	11,9	76,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	9	4,3	44,5
API® 20E (bioMérieux)	8	3,8	75,0
Phoenix™(Becton Dickinson)	7	3,3	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	4	1,9	75,0
Allplex™ (Seegene)	1	0,5	100,0
BD BBL™Crystal™(Becton Dickinson)	1	0,5	100,0
FilmArray® (bioMérieux)	1	0,5	0,0
No especifica ^a	4	1,9	50,0
Total	210	100,0	62,9

^aIncluyen: métodos comerciales (3), espectrometría de masas (1)

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Muchos de estos sistemas comerciales se emplearon junto con aglutinación frente a *Shigella*, por lo que no se pueden sacar conclusiones acerca de la rentabilidad de estos sistemas individualmente.

Tabla 5. Resultados de identificación de *S. flexneri* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>S. flexneri</i>	Género <i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. sonnei</i>	<i>E. coli</i>	Otras especies
MicroScan	80	51 (63,8)	25 (31,2)	2 (2,5)	2 (2,5)	0	0
VITEK® 2	70	38 (54,3)	26 (37,1)	2 (2,9)	1 (1,4)	2 (2,9)	1 (1,4)
MALDI Bruker	25	19 (76,0)	0	0	1 (4,0)	3 (12,0)	2 (8,0)
MALDIVITEK	9	4 (44,5)	0	0	0	5 (55,5)	0
API® 20E	8	6 (75,0)	2 (25,0)	0	0	0	0
Phoenix™	7	7 (100,0)	0	0	0	0	0
Wider®	4	3 (75,0)	0	1 (25,0)	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 203 centros que realizaron una identificación mínima de género *Shigella*. Hubo dos centros que no realizaron el estudio de sensibilidad, con 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 189 (94,0%), empleándose como método único en el 80,6% de los casos. Hubo 31 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (15,4%), de los que 10 (5,0%) lo hicieron de forma única. Por último, fueron 13 (6,5%) 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	162	80,6
Microdilución + disco-placa	15	7,4
Disco-placa	10	5,0
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	7	3,5
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	5	2,5
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	201	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante los métodos de microdilución y tiras de gradiente de concentración fueron los paneles de MicroScan (56,6%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (36,5%). 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)	107	56,6
VITEK® 2 (bioMérieux)	69	36,5
Phoenix™ (Becton Dickinson)	9	4,8
Wider® (Soria Melguizo)	3	1,6
Preparación propia	1	0,5
Total	189	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 201 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Shigella*, 162 (80,6%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 38 (18,9%) los del CLSI, mientras que el centro restante (0,5%) se basó en la bibliografía (tabla 8).

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

Marca	Número	%
EUCAST	162	80,6
CLSI	38	18,9
Bibliografía	1	0,5
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 33 antibióticos diferentes, pero tan sólo 13 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	Evidencia insuficiente
Ampicilina	168	1 (0,6)	0	167 (99,4)	0	0
Amoxicilina-clavulanato	142	21 (14,8)	15 (10,6)	106 (74,6)	0	0
Piperacilina-tazobactam	54	52 (96,4)	1 (1,8)	1 (1,8)	0	0
Cefuroxima	63	42 (66,6)	1 (1,6)	19 (30,2)	1 (1,6)	0
Cefotaxima	155	153 (98,8)	1 (0,6)	1 (0,6)	0	0
Ceftazidima	41	41 (100,0)	0	0	0	0
Cefepima	45	44 (97,8)	0	1 (2,2)	0	0
Ertapenem	48	48 (100,0)	0	0	0	0
Imipenem	72	72 (100,0)	0	0	0	0
Gentamicina	55	31 (56,4)	0	21 (38,2)	3 (5,4)	0
Ciprofloxacino	196	1 (0,5)	1 (0,5)	194 (99,0)	0	0
Levofloxacino	35	0	3 (8,6)	32 (91,4)	0	0
Cotrimoxazol	188	182 (96,8)	0	6 (3,2)	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 el valor asignado del estudio de sensibilidad 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 218 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 198 laboratorios (90,8%) afirmaron no haberlo utilizado, 7 centros (3,2%) declararon el haberlo requerido y los 13 centros restantes (6,0%) lo utilizaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (21 centros) se refería a que la cepa de *S. flexneri* remitida era resistente a las quinolonas. Otros comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con cefalosporinas de 3ª generación, azitromicina o cotrimoxazol, junto con reposición hidroelectrolítica (10 centros).

Siete centros comentaron explícitamente que la cepa había aglutinado frente a antisueros específicos de *S. flexneri*. Cinco centros señalaron que el MALDI-TOF y algunos sistemas moleculares comerciales no discriminaban el género *Shigella* del *E. coli* enteroinvasivo.

Otros cinco centros comentaron que el género *Shigella* presenta resistencia a las cefalosporinas de 1ª y 2ª generación y a los aminoglucósidos, por lo que habían informado estos antibióticos como resistentes.

Por último, tres centros manifestaron que era una enfermedad de declaración obligatoria y dos más que el paciente requería de medidas de aislamiento.

Madrid, 20 de noviembre 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.