

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-3/19

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 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 varón de 60 años, fumador, con antecedentes de hipertensión arterial sin tratamiento y con cirrosis hepática. Acudió a Urgencias de su hospital de área por presentar un aumento de volumen en zona abdominal con dolor intenso, fiebre y escalofríos. En la anamnesis, el paciente refería coluria, diarreas líquidas y anorexia, con una pérdida de peso de 5 kilos en el último mes y aumento de volumen en miembros inferiores. En la exploración física, se observaba palidez cutánea y abdomen doloroso a la palpación en epigastrio, hipocondrio derecho y mesogastrio. La analítica sanguínea mostró una leucocitosis de  $18,6 \times 10^9/L$  con predominio de neutrófilos (85%), amilasa pancreática: 402 U/L y bilirrubina directa: 5,7 mg/dL. Se decidió su ingreso en el Servicio de Digestivo y la realización de paracentesis evacuadora con estudio citológico y bacteriológico. Se extrajo líquido ascítico purulento y maloliente, con un recuento de leucocitos polimorfonucleares superior a  $250/mm^3$ . Parte del líquido fue remitido para su estudio al Servicio de Microbiología, creciendo a las 24 h la cepa objeto del presente 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 *Enterococcus casseliflavus* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) junto con un panel comercial de identificación por pruebas bioquímicas, y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución en caldo junto con tira de gradiente de concentración para la vancomicina, 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 *Enterococcus*.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		EUCAST (V 9.0-2019)	CLSI (M100S29-2019)
Ampicilina	≤1	S	S
Levofloxacino	2	S	S
Vancomicina	4	R	R
Teicoplanina	≤1	S	S
Linezolid	≤1	S	S
Daptomicina	≤0,25	S	S
Gentamicina sinergia	≤500	S	S
Estreptomina sinergia	≤1.000	S	S

<sup>a</sup>S: sensible, R: resistente .

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 230 centros inscritos en Bacteriología, de los que 214 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 93,0%, similar al del último control (95,2%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*E. casseliflavus*). Como se puede observar en la tabla 2, la mayoría de los centros participantes (185, el 86,4%) identificaron correctamente el género y la especie.

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

Identificación	Número	%
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	185	86,4

<i>Enterococcus gallinarum</i>	18	8,4
<i>Enterococcus faecium</i>	3	1,4
<i>Citrobacter koseri</i>	2	0,9
<i>Streptococcus anginosus</i>	2	0,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0,5
Género <i>Enterococcus</i>	1	0,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0,5
<i>Streptococcus bovis</i>	1	0,5
Total	214	100,0

### MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 56,5% de los centros (121), emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que un 40,1% las usaron como único método. La espectrometría de masas fue informada por el 53,3% (114 participantes), y como único método diagnóstico por el 42,0%. La aglutinación frente a los antígenos de grupo de Lancefield fue empleada por el 3,3% de los participantes, otros métodos manuales por el 3,3%, la inmunocromatografía por el 0,9%, y la secuenciación por un 0,5% (tabla 3).

**Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.**

Método	Número	%
Espectrometría de masas	90	42,0
Comercial	86	40,1
Comercial + espectrometría de masas	22	10,3
Comercial + aglutinación	5	2,3
Manual + comercial	3	1,4
Manual + comercial + espectrometría de masas	2	0,9
Comercial + aglutinación + inmunocromatografía	1	0,5
Comercial + inmunocromatografía	1	0,5
Manual	1	0,5
Manual + comercial + aglutinación	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	214	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (75 centros), seguido de los paneles MicroScan de Beckman Coulter (52 centros), de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (39 centros) y del MALDI-TOF de VITEK® MS (31 centros).

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	75	35,6	94,6
MicroScan (Beckman Coulter)	52	24,7	71,2
VITEK® 2 (bioMérieux)	39	18,5	92,2
MALDI-TOF (VITEK® MS)	31	14,7	100,0
Phoenix™ (Becton Dickinson)	5	2,4	100,0
API® 20 STREP (bioMérieux)	4	1,9	25,0
BD BBL™ Crystal™	2	1,0	50,0
API® CORYNE (bioMérieux)	1	0,4	0,0
Wider® (Soria Melguizo)	1	0,4	100,0
No especifica <sup>a</sup>	1	0,4	100,0
Total	211	100,0	87,2

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Los mejores resultados se han obtenido con el MALDI-TOF VITEK® MS y el Phoenix™, ambos con un 100,0% de aciertos, si bien el último fue informado por pocos centros, seguidos del MALDI-TOF de Bruker.

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

Sistema	Número	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. gallinarum</i>	Género <i>Enterococcus</i>	<i>C. koseri</i> <sup>b</sup>	<i>E. faecium</i>	Otros
MALDI-TOF (Bruker)	75	71 (94,6)	1 (1,4)	2 (2,6)	1 (1,4)	0	0
MicroScan (Beckman)	52	37 (71,2)	11 (21,2)	3 (5,7)	0	0	1 (1,9)
VITEK® 2 (bioMérieux)	39	36 (92,2)	1 (2,6)	1 (2,6)	1 (2,6)	0	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	31	31 (100,0)	0	0	0	0	0
Phoenix™ (BD)	5	5 (100,0)	0	0	0	0	0
API® 20 STREP	4	1 (25,0)	0	0	0	2 (50,0)	1 (25,0)
BD BBL™ Crystal™	2	1 (50,0)	0	0	0	0	1 (50,0)

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada sistema comercial.

<sup>b</sup>Respuestas cruzadas con el control mensual de octubre.

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 208 centros que realizaron una identificación mínima de género *Enterococcus*. Un centro no realizó el estudio de sensibilidad, con 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 199 (96,1%), empleándose como método único por el 85,5% de ellos. Hubo 18 laboratorios que emplearon las tiras de gradiente de concentración (8,7%), en todos los casos combinadas con otro método. Por último, 14 centros realizaron una técnica de difusión en disco-placa (6,8%), de los que un 2,4% lo hizo de forma única. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

**Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución	177	85,5
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	15	7,2
Microdilución + disco-placa	6	2,9
Disco-placa	5	2,4
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	2	1,0
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	207	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante microdilución fueron los paneles de MicroScan (56,1%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (37,4%). 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)	111	56,1
VITEK® 2 (bioMérieux)	74	37,4
Phoenix™ (Becton Dickinson)	9	4,5
Sensititre™ (Thermo Scientific)	3	1,5
Wider® (Soria Melguizo)	1	0,5
Total	198	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.

De los 207 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Enterococcus*, 170 (82,1%) utilizaron los criterios del EUCAST y los 37 restantes (17,9%) los del CLSI (tabla 8).

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

Marca	Número	%
EUCAST	170	82,1
CLSI	37	17,9
Total	207	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 34 antibióticos diferentes, pero tan sólo 15 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
Ampicilina	192	190 (99,0)	0	2 (1,0)	0	0
Penicilina	37	34 (91,9)	0	3 (8,1)	0	0
Imipenem	54	52 (96,3)	0	2 (3,7)	0	0
Ciprofloxacino	92	79 (85,9)	4 (4,3)	9 (9,8)	0	0
Levofloxacino	81	62 (76,6)	7 (8,6)	12 (14,8)	0	0
Eritromicina	54	0	14 (25,9)	40 (74,1)	0	0
Clindamicina	31	1 (3,2)	0	30 (96,8)	0	0
Cotrimoxazol	31	6 (19,4)	5 (16,1)	20 (64,5)	0	0

Gentamicina 500	97	97 (100,0)	0	0	0	0
Estreptomicina 1.000	63	63 (100,0)	0	0	0	0
Vancomicina	196	9 (4,6)	2 (1,0)	185 (94,4)	0	0
Teicoplanina	178	176 (99,0)	1 (0,5)	1 (0,5)	0	0
Linezolid	185	183 (98,9)	2 (1,1)	0	0	0
Daptomicina	78	77 (98,7)	0	0	0	1 (1,3)
Tigeciclina	58	58 (100,0)	0	0	0	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 el antibiograma de consenso (valor asignado) 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 214 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 206 laboratorios (96,3%) afirmaron no haberlo utilizado, 3 centros (1,4%) sí lo requirieron, y los 5 restantes (2,3%) lo emplearon parcialmente.

### COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (100 centros) se refería a que *E. casseliflavus* presentaba resistencia intrínseca de bajo nivel a la vancomicina. De ellos, 69 centros señalaron que la cepa presentaba un fenotipo VanC, mientras que otros 6 laboratorios especificaron que se trataba de un fenotipo VanB.

Otros comentarios (7 centros) se referían a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con teicoplanina, linezolid o daptomicina. Tres centros resaltaron que el MicroScan no discriminaba *E. casseliflavus* de *Enterococcus gallinarum*. Por último, 2 participantes señalaron que la cepa era pigmentada.

Madrid, 22 de enero de 2020




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.