

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-2/20

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 varón de 72 años, diagnosticado de *diabetes mellitus* tipo 2 (DM-2), dislipemia e hipertensión arterial, que era llevado al Servicio de Urgencias por su hijo por presentar dolor en hipocondrio derecho tipo cólico, reagudizado en los últimos tres días, acompañado de un intenso dolor abdominal focalizado en hemiabdomen superior con vómitos frecuentes. El paciente estaba afebril y sin ictericia. La exploración abdominal revelaba una masa palpable en hipocondrio derecho. En la analítica destacaba una leucocitosis de  $17.200 \times \text{mm}^3$ , una proteína C reactiva de 8,4 mg/dL y una alcalosis metabólica hipoclorémica. En la tomografía abdominal se observaron signos de colelitiasis con un cálculo impactado en la primera porción duodenal y una probable fístula colecistoduodenal. Además, se realizó una endoscopia digestiva alta que mostró un cálculo biliar post pilórico impactado, el cual fue fragmentado y extraído. El paciente fue dado de alta a los 5 días tras la cirugía. Una semana más tarde acudió a consultas externas de Cirugía General donde la herida fue evaluada por no presentar buen aspecto. El paciente refería dolor y la zona estaba caliente, enrojecida, tumefacta y con secreción sero-purulenta, por lo que se procedió a tomar una muestra del exudado de herida y enviarlo al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, creciendo a las 48 h el microorganismo que fue 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.

B-2/20

## VALOR ASIGNADO

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) 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, complementado con difusión con disco y con tiras de gradiente de concentración, 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 orden Enterobacterales para la interpretación de los resultados.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		EUCAST (V 10.0-2020)	CLSI (M100S30-2020)
Ampicilina	-	R	R
Amoxicilina-clavulanato	>64/2	R	NI
Piperacilina-tazobactam	>32/4	R	NI
Cefuroxima	-	R	R
Cefotaxima	>8	R	R
Cefepima	12	R	R
Ertapenem	<0,5	S	S
Imipenem	≤0,5	S	S
Meropenem	≤0,12	S	S
Gentamicina	≤0,5	S	S
Tobramicina	>8	R	R
Ciprofloxacino	>2	R	R
Cotrimoxazol	>8/152	R	R
Fosfomicina	2	S	S
Colistina	0,5	S	S

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

En la tabla 1 no se incluye los resultados de amoxicilina-ácido clavulánico según los criterios del CLSI debido a que el método empleado utiliza una concentración fija de inhibidor. Asimismo, tampoco se incluyen los resultados de piperacilina-tazobactam según los criterios del CLSI, ya que el método empleado para el estudio de sensibilidad utiliza un rango de concentración que no permite diferenciar entre intermedio y resistente.

En base a los dos laboratorios utilizados para el valor asignado, la cepa de *E. coli* remitida presentaba como características el ser productora de una  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE) de la familia CTX-M-1 y de una carbapenemasa de tipo OXA-48.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 229 centros inscritos en Bacteriología, de los que 207 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 90,4%, similar al del último control (93,0%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*E. coli*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de centros participantes (204, el 98,5%) identificaron correctamente la especie de la cepa control. Los tres resultados discrepantes correspondían probablemente a respuestas cruzadas con cepas de otros controles.

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

Identificación	Número	%
<i>Escherichia coli</i>	204	98,5
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	1	0,5
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	0,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0,5
Total	207	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 61,8% de los centros (128) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 103 (49,8%) las usaron como único método. La espectrometría de masas fue utilizada por el 44,4% de los participantes (92 centros), siendo empleada como único método diagnóstico en el 35,7% de las ocasiones. Por último, respecto a las pruebas manuales, únicamente fueron informadas por 5 laboratorios (2,4%). Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

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

Método	Número	%
Comercial	103	49,8
Espectrometría de masas	74	35,7
Comercial + espectrometría de masas	15	7,3
Comercial + inmunocromatografía	5	2,4
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	3	1,4
Manual + comercial	3	1,4
Comercial + PCR	2	1,0
Manual	1	0,5
Manual + PCR	1	0,5
Total	207	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 (65 centros), seguidos del MALDI-TOF de Bruker (56 centros), de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (46 centros) y del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (31 centros), obteniendo todos ellos un excelente índice de aciertos.

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MicroScan (Beckman Coulter)	65	31,7	98,5
MALDI-TOF (Bruker)	56	27,3	98,2
VITEK® 2 (bioMérieux)	46	22,4	97,8
MALDI-TOF (VITEK® MS)	31	15,1	100,0
Phoenix™ (Becton Dickinson)	4	2,0	100,0
BBL™ Crystal™ (Becton Dickinson)	2	1,0	100,0
API® 20 E (bioMérieux)	1	0,5	100,0
Total	205	100,0	98,5

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 204 centros que realizaron la identificación de *E. coli*. Todos ellos informaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizó un total de 204 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 197 (96,6%), empleándose como método único en el 74,5% de los casos. En cuanto a la técnica de difusión en disco-placa, fue empleada por 37 laboratorios (18,1%), de los que 4 (2,0%) lo hicieron de forma única. Por último, las tiras de gradiente de concentración fueron utilizadas por 29 de los centros (14,2%), en la práctica totalidad de casos combinadas con otro método. Todos estos datos se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución	152	74,5
Microdilución + disco-placa	19	9,3
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	14	6,8
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	12	5,9
Disco-placa	4	2,0
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	2	1,0
Tiras de gradiente de concentración	1	0,5
Total	204	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 (53,0%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (39,9%). El conjunto de las marcas que se emplearon se detalla en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma**

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	105	53,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	79	39,9
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	10	5,1
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	0,5
Sensititre™ (Thermo Fisher)	1	0,5
Wider (Soria Melguizo)	1	0,5
No especifica <sup>a</sup>	1	0,5
Total	198	100,0

<sup>a</sup>Métodos: 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 204 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación de *E. coli*, 180 (88,2%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 23 (11,3%) los del CLSI, mientras que el laboratorio restante (0,5%) se basó en la bibliografía (tabla 7).

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

Marca	Número	%
EUCAST	180	88,2
CLSI	23	11,3
Bibliografía	1	0,5
Total	204	100,0

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. En total, se han recibido resultados correspondientes a 39 antibióticos diferentes, pero tan solo 22 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 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Nº	Categorización <sup>a</sup>				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Ampicilina	149	0	0	149 (100,0)	0	0
Amoxicilina-clavulanato	186	0	0	186 (100,0)	0	0
Piperacilina-tazobactam	157	1 (0,6)	3 (1,9)	153 (97,5)	0	0
Cefuroxima	107	0	0	107 (100,0)	0	0
Cefoxitina	53	41 (77,4)	0	9 (17,0)	3 (5,6)	0

Cefotaxima	173	0	0	173 (100,0)	0	0
Ceftazidima	122	0	0	122 (100,0)	0	0
Ceftazidima-avibactam	39	39 (100)	0	0	0	0
Cefepima	126	1 (0,8)	17 (13,5)	108 (85,7)	0	0
Ertapenem	160	23 (14,3)	22 (13,8)	114 (71,3)	1 (0,6)	0
Imipenem	179	136 (76,0)	27 (15,0)	15 (8,4)	1 (0,6%)	0
Meropenem	121	108 (89,3)	8 (6,6)	4 (3,3)	1 (0,8)	0
Aztreonam	59	1 (1,7)	0	58 (98,3)	0	0
Gentamicina	185	180 (97,3)	2 (1,1)	3 (1,6)	0	0
Tobramicina	78	4 (5,1)	2 (2,6)	72 (92,3)	0	0
Amikacina	144	119 (82,6)	18 (12,5)	7 (4,9)	0	0
Ciprofloxacino	188	1 (0,5)	0	187 (99,5)	0	0
Levofloxacino	40	1 (2,5)	0	39 (97,5)	0	0
Cotrimoxazol	146	14 (9,6)	1 (0,7)	131 (89,7)	0	0
Tigeciclina	114	111 (97,4)	0	3 (2,6)	0	0
Fosfomicina	54	53 (98,1)	0	1 (1,9)	0	0
Colistina	39	37 (94,8)	0	1 (2,6)	1 (2,6)	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 la mayoría de los antibióticos.

### CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Como ya se ha mencionado, la cepa de *E. coli* remitida era productora de una BLEE de la familia CTX-M-1 y de una carbapenemasa de tipo OXA-48. De los 204 participantes con la identificación de *E. coli*, 197 realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa. El conjunto de los comentarios efectuados se ha resumido en la tabla 9.

Los comentarios más frecuentes fueron que la cepa era productora de BLEE y de OXA-48 (86 centros, el 41,1%), que únicamente era productora de BLEE (61 centros, el 29,9%), o bien que era productora de la carbapenemasa OXA-48 (22 centros, el 10,8%).

**Tabla 9. Detección de la característica fenotípica especial.**

Marca	Número	%
BLEE + OXA-48	86	42,1
BLEE	61	29,9
OXA-48	22	10,8
BLEE + carbapenemasa	8	3,9
BLEE + OXA	8	3,9
Carbapenemasa	3	1,5
$\beta$ -lactamasa	2	1,0
OXA	2	1,0
Resistencia a ertapenem	2	1,0
$\beta$ -lactamasa + OXA-48	1	0,5
BLEE +/- AmpC	1	0,5
BLEE + resistencia a carbapenemas	1	0,5
No informa	7	3,4
Total	204	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 207 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 202 laboratorios (97,6%) afirmaron no haberlo utilizado, 2 centros (1,0%) declararon el haberlo requerido y los 3 centros restantes (1,4%) lo utilizaron parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, los principales comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas (n=10), principalmente la combinación con dos antibióticos de diferentes familias.

Por último, algunos centros (n=4) recomendaron el aislamiento del paciente.

Madrid, 9 de noviembre de 2020

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

B-2/20





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.