

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-4/20

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 niño de 10 años, que era llevado por su madre a urgencias de Pediatría por presentar deposiciones diarreas de aparición brusca. El niño no tenía otras patologías conocidas y como únicos antecedentes de interés cabía destacar que acababa de regresar de vacaciones con sus padres. La familia había viajado a Tailandia y la madre refería que habían consumido comida típica del país asiático. Las deposiciones eran diarreas, acuosas y frecuentes, sin sangre ni moco. A la exploración, el paciente presentaba buen estado general, sin fiebre ni signos de deshidratación cutáneo-mucosa. Se tomó una muestra de heces y se solicitó detección de virus, que resultó negativa, así como coprocultivo. A las 48 h de incubación, se aisló 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 *Plesiomonas shigelloides* (valor asignado empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

B-4/20

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución en caldo complementado con tiras de gradiente de concentración (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 de los Enterobacterales.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a	
		EUCAST (V 10.0-2020)	CLSI (M100S30-2020)
Amoxicilina / clavulanato	≤8/4	S	S
Piperacilina / tazobactam	≤8	S	S
Ceftazidima	0,032	S	S
Cefepima	≤0,016	S	S
Imipenem	≤1	S	S
Ciprofloxacino	≤0,12	S	S
Gentamicina	4	NI	S
Amikacina	16	NI	S
Cotrimoxazol	≤2/38	S	S

^aS: sensible; NI: no interpreta .

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 228 centros inscritos en Bacteriología, de los que 212 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 93,0%, superior al del último control (89,5%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*P. shigelloides*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los participantes (n=208 -98,1%-) identificaron correctamente la especie de la cepa control.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	208	98,1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	0,9
<i>Shigella sonnei</i>	1	0,5
<i>Vibrio vulnificus</i>	1	0,5
Total	212	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 57,1% de los centros (n=121) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 99 (46,6%) la usaron como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por el 47,7% de los participantes (n=101), y como único método diagnóstico por el 35,8% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, se informaron por 9 laboratorios (4,3%), uno de ellos (0,5%) de forma única. Por último, 2 laboratorios (0,9%) recurrieron a un estudio de secuenciación para identificar de la cepa. Estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	99	46,6
Comercial	76	35,8
Comercial + espectrometría de masas	21	9,9
Manual + comercial	6	2,8
Comercial + inmunocromatografía	3	1,4
Aglutinación	1	0,5
Comercial + secuenciación	1	0,5
Manual	1	0,5
Manual + aglutinación	1	0,5
Manual + espectrometría de masas	1	0,5
PCR	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
Total	212	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (78 centros), seguido de los paneles MicroScan de Beckman Coulter (43 centros), de las tarjetas VITEK® 2 (42 centros) y del MALDI-TOF de VITEK® MS (39 centros), estos dos últimos de bioMérieux.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	78	37,7	100,0
MicroScan (Beckman Coulter)	43	20,8	97,7
VITEK® 2 (bioMérieux)	42	20,3	97,6
MALDI-TOF (VITEK® MS)	39	18,8	97,4
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	3	1,4	100,0
API® 20E (bioMérieux)	2	1,0	100,0
Total	207	100,0	98,6

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos ellos alcanzaron unos excelentes resultados para la identificación de *P. shigelloides* con escasos errores anecdóticos.

Tabla 5. Resultados de identificación de *P. shigelloides* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>
MALDI-TOF (Bruker)	78	78 (100,0)	0	0
MicroScan	43	42 (97,7)	1 (2,3)	0
VITEK® 2	42	41 (97,6)	0	1 (2,4)
MALDI-TOF (VITEK® MS)	39	38 (97,4)	1 (2,6)	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 208 centros que realizaron la identificación correcta de *P. shigelloides*, si bien hubo 4 de ellos que no grabaron correctamente en la *web* los resultados de los antibióticos analizados. Desde el Programa de Control de Calidad SEIMC, les recomendamos que revisen que sus respuestas quedan grabadas de forma adecuada en la nueva aplicación, ya que errores de este tipo pueden condicionar resultados no esperados en los informes comparados de resultados (certificados).

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 190 (91,3%), empleándose como método único en el 83,2% de los casos. Hubo 29 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (13,9%), de los que 15 (7,2%) lo hicieron de forma única. Por último, fueron 8 (3,8%) los centros que emplearon las tiras de gradiente de concentración, utilizadas de forma aislada por el 1,0% de los mismos. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	173	83,2
Disco-placa	15	7,2
Microdilución + disco-placa	12	5,7
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	4	1,9
Tiras de gradiente de concentración	2	1,0
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	0,5
Microdilución + disco-placa + tira de gradiente de concentración	1	0,5
Total	208	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron los paneles de MicroScan (51,5%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (38,3%). El conjunto de las marcas informadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	101	51,5
VITEK® 2 (bioMérieux)	75	38,3
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	8	4,1
Wider® (Soria Melguizo)	4	2,0
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	0,5
No especifica marca ^a	7	3,6
Total	196	100,0

^aMétodos: tiras de gradiente de concentración (5), microdilución (2).

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 208 laboratorios que realizaron el antibiograma con la identificación mínima de género *Plesiomonas*, 184 (88,5%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 16 (7,7%) los del CLSI, 6 laboratorios (2,8%) se basaron en ambos comités, mientras que otro centro (0,5%) empleó la bibliografía. Por último, hubo un centro (0,5%) que no informó de esta premisa. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Marca	Número	%
EUCAST	184	88,5
CLSI	16	7,7
CLSI + EUCAST	6	2,8
Bibliografía	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	208	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 39 antibióticos diferentes, pero tan solo 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	Evidencia insuficiente
Ampicilina	95	5 (5,3)	0	86 (90,5)	4 (4,2)	0
Amoxicilina-clavulanato	131	115 (87,8)	0	15 (11,5)	1 (0,7)	0
Piperacilina-tazobactam	79	77 (97,4)	0	1 (1,3)	1 (1,3)	0
Aztreonam	38	31 (81,6)	2 (5,2)	4 (10,6)	1 (2,6)	0
Cefuroxima	69	67 (97,2)	0	1 (1,4)	1 (1,4)	0

Cefotaxima	146	144 (98,6)	0	2 (1,4)	0	0
Ceftazidima	78	67 (85,9)	3 (3,8)	8 (10,3)	0	0
Cefepima	69	61 (88,4)	2 (2,9)	6 (8,7)	0	0
Ertapenema	51	51 (100,0)	0	0	0	0
Imipenema	101	101 (100,0)	0	0	0	0
Meropenema	42	42 (100,0)	0	0	0	0
Ciprofloxacino	191	188 (98,4)	0	2 (1,0)	1 (0,6)	0
Levofloxacino	36	35 (97,2)	0	0	1 (2,8)	0
Gentamicina	88	13 (14,8)	38 (43,2)	35 (39,8)	2 (2,2)	0
Amikacina	61	11 (18,0)	32 (52,5)	16 (26,2)	2 (3,3)	0
Cotrimoxazol	182	180 (99,0)	0	1 (0,5)	1 (0,5)	0
Tigeciclina	33	33 (100,0)	0	0	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, 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 212 participantes que enviaron hoja de respuesta, 211 (99,5%) afirmaron no haberlo utilizado, mientras que el centro restante (0,5%) sí lo requirió.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (19 centros) se refería a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con cotrimoxazol, azitromicina o cefalosporinas de 3ª generación, junto con reposición hidroelectrolítica, y evitando la administración de quinolonas al ser un paciente pediátrico. Algunos de estos centros comentaron que el tratamiento antibiótico sólo estaba indicado en los casos graves.

Dos centros comentaron que los aminoglucósidos presentaban una baja actividad intrínseca frente a *P. shigelloides*. Por último, otros dos señalaron explícitamente que habían utilizado los puntos de corte de los enterobacteriales para la interpretación del antibiograma.

Madrid, 27 de abril de 2021



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.

B-4/20