

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-1/21

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 71 años, con antecedentes de diabetes mellitus tipo II, tabaquismo e hipertensión arterial, que era intervenido quirúrgicamente por una neoplasia de colon. A las 48 h de la intervención, el paciente sufrió un súbito empeoramiento de su estado general, presentando fiebre de hasta 39,2°C acompañada de sudor frío, escalofríos, taquipnea, y dolor intenso en la zona de la herida quirúrgica. A la exploración el paciente mostraba mal estado general, palidez cutáneo-mucosa e hipotensión (TA de 100/58); la palpación abdominal mostraba un abdomen distendido, con aumento de ruidos intestinales, pero sin masas ni megalias; tras la retirada del vendaje se podía observar en el área de alrededor de la herida una zona eritematosa y edematosa con aumento del calor local y presencia de exudado purulento. Se realizó limpieza y desbridamiento de la herida y se tomaron muestras del exudado de la lesión, así como dos muestras de hemocultivo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, instaurándose cobertura antibiótica de amplio espectro. La tinción de Gram del exudado mostró la presencia de bacilos grampositivos, algún bacilo gramnegativo y escasos cocos grampositivos formando cadenas. A las 48 h de incubación, se objetivó el crecimiento, entre otros, del microorganismo 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.

B-1/21

## VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Clostridium subterminale* (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 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 a los anaerobios grampositivos.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>	
		EUCAST (V 11.0-2021)	CLSI (M100S30-2020)
Penicilina	≤0,002	S	S
Amoxicilina / clavulanato	≤0,016	S	S
Imipenem	0,094	S	S
Clindamicina	0,047	S	S
Metronidazol	0,38	S	S

<sup>a</sup>S: sensible .

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 234 centros inscritos en Bacteriología, de los que 208 remitieron hoja de respuesta. En una ocasión, tras la siembra de la muestra, no se obtuvo crecimiento tras el subcultivo (0,5%), lo que se explica presumiblemente por la no incubación de la cepa en atmósfera de anaerobiosis. Así, hubo 207 respuestas analizables, con lo que el porcentaje real de participación fue del 88,5%, inferior al del último control (93,0%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta óptima la identificación correcta de género y especie (*C. subterminale*), y como respuesta aceptable la identificación mínima de género *Clostridium*. Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros participantes (72,9%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa control, mientras que el 5,7% informaron género *Clostridium* y el 9,8% otra especie

B-1/21

perteneciente a dicho género. Así, un 88,4% de los participantes informó correctamente la cepa dentro del género *Clostridium*.

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

Identificación	Número	%
<i>Clostridium subterminale</i>	151	72,9
Género <i>Clostridium</i>	12	5,7
<i>Clostridium histolyticum</i>	8	3,8
<i>Clostridium perfringens</i>	4	1,9
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	4	1,9
<i>Fusobacterium varium</i>	4	1,9
<i>Escherichia coli</i>	3	1,4
Bacilo anaerobio	2	1,0
Bacilo gramnegativo anaerobio	2	1,0
<i>Clostridium clostridioforme</i>	2	1,0
<i>Clostridium tetani</i>	2	1,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	1,0
Bacilo grampositivo	1	0,5
<i>Bacteroides fragilis</i>	1	0,5
<i>Clostridioides difficile</i>	1	0,5
<i>Clostridium argentinense</i>	1	0,5
<i>Clostridium novyi</i>	1	0,5
<i>Clostridium septicum</i>	1	0,5
<i>Clostridium sporogenes</i>	1	0,5
<i>Enterococcus faecium</i>	1	0,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0,5
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1	0,5
<i>Porphyromonas asaccharolitica</i>	1	0,5
Total	207	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 69,1% de los centros (143) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 127 (61,4%) la informaron como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 68 centros (32,9%) y como único método diagnóstico por el 21,3% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, se informaron por 15 laboratorios (7,2%), 3 de ellos (1,4%) las usaron de forma única. Hubo 3 centros (1,4%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para identificar de la cepa, uno de ellos por secuenciación de última generación. Por último, hubo 3 laboratorios (1,4%) que no informaron de esta premisa. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

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

Método	Número	%
Espectrometría de masas	127	61,4
Comercial	44	21,3
Comercial + espectrometría de masas	14	6,8
Manual + comercial	10	4,8
Manual	3	1,4
Secuenciación	3	1,4
Manual + espectrometría de masas	2	1,0
Aglutinación	1	0,5
No informa	3	1,4
Total	207	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (94 centros), seguido del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (40 centros).

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	94	48,0	94,7
MALDI-TOF (VITEK® MS)	40	20,4	95,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	32	16,3	25,0
Galerías API®			
API® 20 A (bioMérieux)	14	7,2	35,7
rapid ID 32™ A (bioMérieux)	6	3,0	66,7

MicroScan (Beckman Coulter)	7	3,6	28,6
RapID™ ONE (ThermoFisher)	2	1,0	50,0
BD BBL™ Crystal™ (Becton Dickinson)	1	0,5	0,0
Total	196	100,0	75,0

La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Los mejores resultados se obtuvieron con los MALDI-TOF de VITEK® MS (95,0% de aciertos) y de Bruker (94,7% de aciertos). El resto de los sistemas obtuvieron un bajo porcentaje de identificaciones correctas de especie. Hay que matizar que algunos de los fallos en la identificación de estos sistemas comerciales se debieron a identificaciones cruzadas con otras cepas del Programa de Control de Calidad SEIMC.

**Tabla 5. Resultados de identificación de *C. subterminale* con los sistemas comerciales más empleados.**

Sistema	Número	<i>Clostridium subterminale</i>	Género <i>Clostridium</i>	<i>Clostridium histolyticum</i>	Otras Identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	94	89 (94,7)	0	0	5 (5,3) <sup>b</sup>
MALDI-TOF (VITEK® MS)	40	38 (95,0)	0	0	2 (5,0) <sup>c</sup>
VITEK® 2 (bioMérieux)	32	8 (25,0)	8 (25,0)	4 (12,5)	12 (37,5) <sup>d</sup>
API® 20 A (bioMérieux)	14	5 (35,7)	3 (21,4)	2 (14,3)	4 (28,6) <sup>e</sup>
MicroScan (Beckman)	7	2 (28,6)	1 (14,3)	0	4 (57,1) <sup>f</sup>
rapid ID 32™ A (bioMérieux)	6	4 (66,7)	0	2 (33,3)	0

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

<sup>b</sup>Identificaciones informadas: *Clostridium clostridioforme* (1), *Enterococcus faecium* (1), *Escherichia coli* (1), *Klebsiella pneumoniae* (1) y *Plesiomonas shigelloides* (1).

<sup>c</sup>Identificaciones informadas: *Clostridium clostridioforme* (1), *Staphylococcus epidermidis* (1).

<sup>d</sup>Identificaciones informadas: *Fusobacterium nucleatum* (4), *Fusobacterium varium* (4), bacilo grampositivo (1), *Clostridium novyi* (1), *Clostridium perfringens* (1), *Escherichia coli* (1).

<sup>e</sup>Identificaciones informadas: *Clostridium perfringens* (1), *Clostridium septicum* (1), *Clostridium sporogenes* (1), *Porphyromonas asaccharolitica* (1).

<sup>f</sup>Identificaciones informadas: *Clostridioides difficile* (1), *Clostridium perfringens* (1), *Clostridium tetani* (1), *Escherichia coli* (1).

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 183 centros que realizaron una identificación mínima de género *Clostridium*. De ellos, 15 no realizaron el estudio de sensibilidad, mientras que otro centro no introdujo ningún antibiótico en la nueva aplicación, por lo que se analizaron un total de 167 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante tiras de gradiente de concentración fue de 112 (67,1%), empleándose como método único en el 53,3% de las ocasiones. Hubo 47 laboratorios que realizaron una técnica de difusión en disco-placa (28,1%), de los que 23 (13,7%) lo hicieron de forma única. Respecto al método de la concentración crítica, fue utilizado por 17 participantes (10,2%), mientras que 16 laboratorios (9,6%) utilizaron una técnica de microdilución en caldo. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

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

Método	Número	%
Tiras de gradiente de concentración	89	53,3
Disco-placa	23	13,7
Disco-placa + tira de gradiente de concentración	21	12,6
Concentración crítica	15	9,0
Microdilución	14	8,4
Microdilución + disco-placa	2	1,2
Concentración crítica + disco-placa + tira de gradiente de concentración	1	0,6
Concentración crítica + tira de gradiente de concentración	1	0,6
No informa	1	0,6
Total	167	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de las CMI mediante los métodos de tiras de gradiente de concentración, concentración crítica y microdilución fueron las tiras de Etest® (54,4%), seguidas de las tiras MIC Test Strip de Liofilchem (15,7%), y de la galería ATB™ ANA de bioMérieux (10,9%). El conjunto de las marcas informadas se detalla en la tabla 7.

**Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma**

Marca	Número	%
Etest® (bioMérieux)	80	54,4
MIC Test Strip (Liofilchem®)	23	15,7
ATB™ ANA (bioMérieux)	16	10,9
Sensititre™ (Thermo Scientific)	7	4,8
Oxoid (Thermo Scientific)	5	3,4
Micronaut (Merlin Diagnostika)	4	2,7
MicroScan (Beckman Coulter)	2	1,3

VITEK® 2 (bioMérieux)	2	1,3
No especifica <sup>a</sup>	8	5,5
Total	147	100,0

<sup>a</sup>Métodos: tiras de gradiente de concentración (7), 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 167 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Clostridium*, 141 (84,4%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 12 (7,2%) los del CLSI, 8 centros (4,8%) se basaron en ambos comités, mientras que los 5 restantes (3,0%) se basaron en la bibliografía. Por último, hubo un centro (0,6%) que no informó al respecto. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Marca	Número	%
EUCAST	141	84,4
CLSI	12	7,2
CLSI + EUCAST	8	4,8
Bibliografía	5	3,0
No informa	1	0,6
Total	167	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 30 antibióticos diferentes, pero tan solo 8 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	140	133 (95,0)	2 (1,4)	5 (3,6)	0	0
Amoxicilina-clavulanato	133	132 (99,2)	0	1 (0,8)	0	0
Piperacilina-tazobactam	96	96 (100,0)	0	0	0	0
Imipenem	114	113 (99,1)	1 (0,9)	0	0	0
Meropenem	36	36 (100,0)	0	0	0	0
Clindamicina	157	157 (100,0)	0	0	0	0
Metronidazol	157	156 (99,4)	0	1 (0,6)	0	0
Vancomicina	75	75 (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 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 207 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 186 laboratorios (89,9%) afirmaron no haberlo utilizado, 9 centros (4,3%) sí lo requirieron, y los 12 restantes (5,8%) lo emplearon sólo parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (4 centros) se refería a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con amoxicilina/clavulanato, una carbapenema, o cefepima asociados a clindamicina o metronidazol.

Tres centros comentaron que habían obtenido una baja probabilidad en la identificación de especie de la cepa remitida con los sistemas comerciales utilizados. Tres centros señalaron que habían observado la presencia de esporas subterminales en la tinción de Gram.

Dos especificaron en sus comentarios que habían realizado un antibiograma orientativo con disco-placa. Por último, otros dos centros señalaron que *C. subterminale* se asociaba a infecciones de herida.



Madrid, 14 de julio 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-1/21