

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-3/21

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 una paciente de 77 años con antecedentes de hipertensión arterial y diabetes mellitus tipo II, que acudía al servicio de Urgencias de su hospital de área por un cuadro de ictericia, confusión y vómitos de hacía 48 horas de evolución. Desde los tres meses previos, la paciente refería pérdida de peso y deterioro progresivo del estado general. A la exploración física, se objetivaba hepatomegalia y ligera ascitis. Fue ingresada en el hospital y se le realizó biopsia hepática y serología que permitieron el diagnóstico de hepatitis vírica fulminante, por lo que resultó candidata a trasplante hepático urgente. Se insertó un catéter de Swanz-Ganz y, tras varios días de estabilidad clínica, presentó un brusco deterioro de su estado, con hipotensión y fiebre de 38,6°C. Se decidió extraer dos frascos de hemocultivos, así como la retirada del catéter, que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, aislándose a partir de ambos frascos y de la punta del catéter, tras pocas horas de incubación, 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-3/21

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Staphylococcus epidermidis* (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 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 *Staphylococcus*.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 11.0-2021)	CLSI (M100S31-2021)
Penicilina	>0,25	Resistente	Resistente
Amoxicilina-clavulánico	>4/2	Resistente	Resistente
Oxacilina	>2	Resistente	Resistente
Eritromicina	>4	Resistente	Resistente
Clindamicina	>2	Resistente	Resistente
Gentamicina	>8	Resistente	Resistente
Levofloxacino	>4	Resistente	Resistente
Cotrimoxazol	>4/76	Resistente	Resistente
Vancomicina	4	Sensible*	Sensible
Linezolid	>4	Resistente	Resistente
Daptomicina	≤1	Sensible*	Sensible
Fosfomicina	≤32	Sensible*	No interpretado
Ácido fusídico	16	Resistente	No interpretado

*Sensible: sensible con dosificación estándar.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 234 centros inscritos en Bacteriología, de los que 220 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 94,0%, similar al del último control (92,7%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*S. epidermidis*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros participantes (210, el 95,4%) identificaron correctamente la especie de la cepa control. Dos de los resultados discrepantes correspondían a respuestas cruzadas con otras cepas del Control de Calidad SEIMC.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	210	95,4
<i>Staphylococcus hominis</i>	6	2,7
Género <i>Staphylococcus</i>	2	0,9
<i>Bacillus licheniformis</i>	1	0,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0,5
Total	220	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 56,4% de los centros (124) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de ellos 106 (48,1%) como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 104 centros (47,3%) y como único método diagnóstico por el 38,1% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, fueron informadas por 9 laboratorios (4,1%), 2 de ellos (0,9%) de forma única. Hubo 2 centros (0,9%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para identificar de la cepa, uno de ellos mediante secuenciación de última generación. La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	106	48,1
Comercial	84	38,1
Comercial + espectrometría de masas	12	5,4
Manual + espectrometría de masas	3	1,3
Comercial + aglutinación	2	0,9
Manual	2	0,9
Manual + comercial	2	0,9
Comercial + inmunocromatografía	1	0,5
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,5
Espectrometría de masas + aglutinación	1	0,5
Manual + comercial + aglutinación	1	0,5
Manual + comercial + espectrometría de masas	1	0,5
PCR a tiempo real	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
Secuenciación de última generación (NGS)	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	220	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (82 centros), seguido del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (n=42), de los paneles MicroScan de Beckman Coulter (n=42), y de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (41 centros).

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	82	38,1	98,8
MALDI-TOF (VITEK® MS)	42	19,6	97,6
MicroScan (Beckman Coulter)	42	19,6	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	41	19,1	85,4
API® STAPH (bioMérieux)	3	1,4	100,0

BD Phoenix™	3	1,4	100,0
FilmArray® (bioMérieux)	1	0,4	100,0
Wider® (Soria Melguizo)	1	0,4	100,0
Total	215	100,0	96,3

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos ellos, con la excepción de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux, obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de *S. epidermidis*. Respecto al VITEK® 2, como se observa en la tabla, un 14,6% de las identificaciones efectuadas con este sistema se informaron erróneamente *S. hominis*. Como ha sucedido en otros controles, dos de los fallos en la identificación de los sistemas comerciales se debieron a identificaciones cruzadas con otras cepas del Programa de Control de Calidad SEIMC enviadas al mismo tiempo.

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

Sistema	Número	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MALDI-TOF (Bruker)	82	81 (98,8)	0	1 (1,2)	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	42	41 (97,6)	0	0	1 (2,4)
MicroScan (Beckman)	42	42 (100,0)	0	0	0
VITEK® 2 (bioMérieux)	41	35 (85,4)	6 (14,6)	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 218 centros que realizaron una identificación mínima de género *Staphylococcus*. De ellos, hubo 2 centros que 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 215 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 208 (96,7%), empleándose como método único en el 68,9% de los casos. Hubo 48 laboratorios (22,3%) que utilizaron las tiras de gradiente de concentración, utilizadas de forma aislada por el 0,9% de los mismos. La técnica de difusión en disco-placa fue realizada por 28 de los centros (13,0%), de los cuales un 1,4% fue de forma única. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	148	68,9
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	37	17,2
Microdilución + disco-placa	16	7,4
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	7	3,3
Disco-placa	3	1,4
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	2	0,9
Tiras de gradiente de concentración	2	0,9
Total	215	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 (52,1%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (42,0%). 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)	108	52,1
VITEK® 2 (bioMérieux)	87	42,0
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	7	3,4
Etest® (bioMérieux)	2	1,0
Wider® (Soria Melguizo)	2	1,0
Sensititre™ (Thermo Fisher)	1	0,5
Total	207	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 215 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Staphylococcus*, 201 (93,5%) utilizaron los criterios del EUCAST y los 14 restantes (6,5%) los del CLSI (tabla 8).

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

Marca	Número	%
EUCAST	201	93,5
CLSI	14	6,5
Total	215	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 47 antibióticos diferentes, pero tan solo 20 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/ SEI	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Penicilina	112	0	0	112 (100,0)	0	0
Ampicilina	30	2 (6,7)	0	28 (93,3)	0	0
Amoxicilina-clavulánico	57	2 (3,5)	0	55 (96,5)	0	0
Oxacilina	174	2 (1,1)	0	172 (98,9)	0	0
Eritromicina	163	3 (1,9)	1 (0,6)	159 (97,5)	0	0
Clindamicina	191	3 (1,6)	3 (1,6)	185 (96,8)	0	0
Ciprofloxacino	89	2 (2,2)	3 (3,4)	84 (94,4)	0	0
Levofloxacino	155	0	1 (0,6)	154 (99,4)	0	0
Tetraciclina	80	39 (48,8)	16 (20,0)	22 (27,5)	2 (2,5)	1 (1,2)
Gentamicina	170	0	0	170 (100,0)	0	0
Tobramicina	64	1 (1,6)	0	63 (98,4)	0	0
Cotrimoxazol	158	2 (1,3)	15 (9,5)	139 (88,0)	1 (0,6)	1 (0,6)
Rifampicina	114	1 (0,9)	0	113 (99,1)	0	0
Vancomicina	212	208 (98,1)	0	4 (1,9)	0	0

Teicoplanina	156	91 (58,3)	2 (1,3)	63 (40,4)	0	0
Linezolid	199	1 (0,5)	0	198 (99,5)	0	0
Daptomicina	176	174 (98,9)	0	2 (1,1)	0	0
Tigeciclina	70	70 (100,0)	0	0	0	0
Fosfomicina	101	53 (52,5)	0	48 (47,5)	0	0
Ácido fusídico	42	1 (2,4)	2 (4,7)	39 (92,9)	0	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

Abreviatura: SEI (sensible con exposición incrementada).

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, a excepción de la fosfomicina, en la que se observó una moderada discrepancia. Ello está en relación con la marca empleada para el estudio de sensibilidad para este antibiótico. Así, de los 49 centros que emplearon el MicroScan, 47 informaron la fosfomicina sensible y los otros 2 resistente. Sin embargo, todos los 46 centros que usaron el VITEK® 2 la informaron como resistente.

CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Aunque la resistencia a linezolid no fue especificada como tal en el apartado de valor asignado de la característica fenotípica especial por parte de los laboratorios expertos, ésta sí se consignó en el apartado de comentarios. Además, dado que aproximadamente un 30% de los participantes la especificaron como característica fenotípica especial, el Programa ha considerado analizar este fenotipo de resistencia, que es concordante con los resultados del antibiograma de referencia (valor asignado del antibiograma). De los 218 laboratorios con la identificación mínima de género *Staphylococcus*, 77 (35,3%) realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa. En conjunto, 67 participantes (30,7%) señalaron explícitamente que dicha cepa de *S. epidermidis* era resistente al linezolid (tabla 10).

Tabla 10. Detección de la característica fenotípica especial.

Marca	Número	%
Resistente al linezolid	48	22,0
Resistente al linezolid y a la meticilina	9	4,1
Resistente al linezolid y a la teicoplanina	8	3,7
Resistente a la meticilina	7	3,2
Resistente al linezolid, meticilina y a la teicoplanina	2	0,9
Resistente a la teicoplanina	2	0,9
Multirresistente	1	0,5

No informa	141	64,7
Total	218	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 220 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 217 laboratorios (98,6%) afirmaron no haberlo utilizado y los 3 centros restantes (1,4%) declararon haberlo requerido, aunque de forma parcial.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, 10 centros sugerían el mecanismo de resistencia de la cepa al linezolid, principalmente por mutaciones en el gen del ARNr 23S, si bien no podían descartar otros mecanismos asociados.

Ocho centros comentaron explícitamente que habían comprobado la resistencia al linezolid mediante una tira de gradiente de concentración. Hubo cuatro centros que señalaron una discordancia para la teicoplanina entre la microdilución comercial (que daba resistente) y las tiras de gradiente de concentración (sensible).

Otros comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas (4 centros), principalmente el tratamiento con daptomicina. Así mismo, 4 centros comentaron que la paciente tenía una bacteriemia asociada a catéter. Por último, dos centros recomendaron el aislamiento de la paciente.

Madrid, 2 de diciembre 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.

B-3/21

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.