

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-3/22

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 un paciente varón de 67 años que acudía al Servicio de Urgencias de su hospital de área por presentar fiebre y escalofríos de varios días de evolución. Como antecedentes clínicos de interés, el paciente era fumador de 20 cigarrillos/día, tenía hábito enólico moderado, y padecía una enfermedad pulmonar obstructiva crónica que se trataba con broncodilatadores nebulizados durante los últimos cuatro años. A la exploración, el paciente estaba consciente, orientado, con ligera palidez cutáneo-mucosa, ligera taquipnea, pero sin aumento de su disnea habitual; a la palpación abdominal se detectaba hepatomegalia de dos traveses de dedo. En la imagen ecográfica se observaron lesiones sugestivas de abscesos hepáticos, por lo que se decidió extraer una muestra del contenido de dichos abscesos mediante aspiración guiada por ecografía y se remitió al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, aislándose a las 24 horas 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.

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Burkholderia cenocepacia* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante secuenciación de última generación (NGS).

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución en caldo complementado con disco-difusión y 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*) correspondientes al complejo *Burkholderia cepacia*. Respecto a EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), aunque no dispone de puntos de corte específicos para este complejo, debido a que los métodos de sensibilidad presentan dificultades técnicas y no se correlacionan de forma manifiesta con la evolución clínica, se han interpretado en base a los puntos de corte PK-PD (*non-species related*) de EUCAST.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 12.0-2022)	CLSI (M100S32-2022)
Ceftazidima	4	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Meropenem	2	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Levofloxacin	2	Resistente	Sensible
Minociclina		No interpretado	Sensible
Cotrimoxazol	≤1	No interpretado	Sensible

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 237 centros inscritos en Bacteriología, de los que 220 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 92,8%, similar al del último control (94,5%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró respuestas válidas la identificación correcta de género y especie (*B. cenocepacia*), así como también *B. cepacia* (especie estrechamente relacionada con la anterior), y el complejo *B. cepacia*. Como se puede observar en la tabla 2, hubo 99 centros (el 45,0%) que respondieron *B. cenocepacia*, mientras que otros 81 centros (36,8%) identificaron la cepa como *B. cepacia*, y otros 34 (15,4%) respondieron complejo *B. cepacia*, con lo que el porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 97,3%.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	99	45,0
<i>Burkholderia cepacia</i>	81	36,8
<i>Burkholderia cepacia</i> complex	34	15,4
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	1	0,5
<i>Chryseomonas luteola</i>	1	0,5
<i>Pasteurella multocida</i>	1	0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0,5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	0,5
<i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	1	0,5
Total	220	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 61,4% de los centros (135) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 117 (53,1%) lo usaron como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 97 centros (el 44,1%) y como único método diagnóstico fueron empleadas por el 32,7%. Respecto a las pruebas manuales, fueron informadas por 9 laboratorios (4,1%), uno de ellos (0,5%) de forma única. Por último, hubo 4 centros (1,8%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para identificar la cepa, uno de ellos mediante secuenciación de última generación. De estos cuatro centros que realizaron la secuenciación, tres respondieron *B. cenocepacia* y un centro contestó complejo *B. cepacia*. La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	117	53,1
Comercial	72	32,7
Comercial + espectrometría de masas	16	7,2
Manual + comercial	7	3,1
Secuenciación	2	0,9
Comercial + inmunocromatografía	1	0,5
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,5
Manual	1	0,5
Manual + espectrometría de masas	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 (85 centros), seguido del MALDI-TOF de VITEK® MS (47 centros) de bioMérieux y de las tarjetas VITEK® 2 (42 centros), también de bioMérieux.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto ^a
MALDI-TOF (Bruker)	85	39,5	97,6
MALDI-TOF (VITEK® MS)	47	21,9	97,9
VITEK® 2 (bioMérieux)	42	19,5	97,6
MicroScan (Beckman Coulter)	37	17,2	100,0
BD Phoenix™	3	1,4	100,0
API® 20E(bioMérieux)	1	0,5	0,0
Total	215	100,0	97,7

^aSe han agrupado las respuestas *B. cenocepacia*, *B. cepacia* y complejo *B. cepacia*.

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos ellos obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de las especies *B. cenocepacia* o *B. cepacia*, con algunos errores anecdóticos.

Tabla 5. Resultados de identificación de *B. cenocepacia* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>B. cenocepacia</i>	<i>B. cepacia</i>	Complejo <i>B. cepacia</i>	Otras Identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	85	55 (64,7)	16 (18,8)	12 (14,1)	2 ^b (2,4)
MALDI-TOF (VITEK® MS)	47	37 (78,8)	8 (17,0)	1 (2,1)	1 ^c (2,1)
VITEK® 2 (bioMérieux)	42	1 (2,4)	32 (76,2)	8 (19,0)	1 ^d (2,4)
MicroScan (Beckman)	37	3 (8,1)	22 (59,5)	12 (32,4)	0

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

^b*Pasteurella multocida*(1) y *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (1).

^c*Pseudomonas fluorescens* (1).

^d*Acinetobacter haemolyticus*(1).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 214 centros que realizaron una identificación mínima de complejo *B. cepacia*. De ellos, 14 no realizaron el estudio de sensibilidad, mientras que otros 11 no introdujeron ningún antibiótico en la aplicación, probablemente al no existir puntos de corte de EUCAST específicos para este complejo; por lo que se analizaron un total de 189 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 166 (87,8%), empleándose como método único en el 66,7% de las ocasiones. Hubo 43 laboratorios (22,8%) que utilizaron las tiras de gradiente de concentración, de forma aislada por 10 centros (5,3%). La técnica de difusión en disco-placa fue realizada por 37 de los centros (19,6%), de los cuales un 3,2% fue de forma única. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	126	66,7
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	16	8,4
Microdilución + disco-placa	14	7,4
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	10	5,3
Tiras de gradiente de concentración	10	5,3
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	7	3,7
Disco-placa	6	3,2
Total	189	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 MicroScan (55,9%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (31,1%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	99	55,9
VITEK® 2 (bioMérieux)	55	31,1
Etest® (bioMérieux)	14	7,9
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	5	2,8
MIC Test Strip (Liofilchem®)	3	1,7
Sensititre™ (Thermo Fisher)	1	0,6
Total	177	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 189 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de complejo *B. cepacia*, 99 (52,4%) utilizaron los criterios del EUCAST y otros 81 (42,9%) los del CLSI. Por último, 7 centros (3,7%) utilizaron criterios de ambos comités mientras que los 2 centros restantes (1,0%) se basaron en la bibliografía. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Marca	Número	%
EUCAST	99	52,4
CLSI	81	42,9
CLSI + EUCAST	7	3,7
Bibliografía	2	1,0
Total	189	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 37 antibióticos diferentes, pero tan solo 13 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/ SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	60	3 (5,0)	0	51 (85,0)	5 (8,3)	1 (1,7)
Cefepima	49	11 (22,5)	5 (10,2)	25 (51,0)	6 (12,3)	2 (4,0)
Ceftazidima	173	139 (80,4)	9 (5,2)	4 (2,3)	16 (9,2)	5 (2,9)
Ciprofloxacino	85	8 (9,4)	4 (4,7)	65 (76,5)	7 (8,2)	1 (1,2)
Colistina	39	2 (5,1)	0	34 (87,2)	2 (5,1)	1 (2,6)
Cotrimoxazol	148	122 (82,4)	3 (2,0)	2 (1,4)	16 (10,8)	5 (3,4)
Gentamicina	71	2 (2,8)	0	63 (88,7)	4 (5,7)	2 (2,8)
Imipenem	55	8 (14,5)	5 (9,1)	30 (54,6)	11 (20,0)	1 (1,8)
Levofloxacino	103	70 (68,0)	12 (11,7)	9 (8,7)	8 (7,7)	4 (3,9)
Meropenem	169	140 (82,9)	2 (1,2)	3 (1,7)	19 (11,2)	5 (3,0)
Minociclina	55	42 (76,4)	6 (10,9)	1 (1,8)	4 (7,3)	2 (3,6)
Piperacilina-tazobactam	47	16 (34,0)	3 (6,4)	20 (42,6)	5 (10,6)	3 (6,4)
Tobramicina	71	2 (2,8)	0	61 (85,9)	7 (9,9)	1 (1,4)

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico. Abreviaturas: SDE (Sensible dosis estándar), SEI (sensible con exposición incrementada), SDD (sensible dosis dependiente).

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado del estudio de sensibilidad para todos los antibióticos, con la única excepción del levofloxacino, en el que se observó una moderada discrepancia entre los centros. En base a los laboratorios que actuaron de referencia, la cepa presentaba una CMI al levofloxacino de 2 µg/mL que sería sensible según los criterios del CLSI (sensible ≤2 µg/mL). Sin embargo, EUCAST, como ya se ha comentado, no dispone de puntos de corte específicos para el

complejo *B. cepacia*, pero si se interpreta en base a los puntos de corte PK-PD sería resistente (resistente >1 µg/mL).

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: 208 laboratorios (94,5%) afirmaron no haberlo utilizado, 7 centros (3,2%) sí lo requirieron, y los 5 restantes (2,3%) lo emplearon sólo parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (46 centros) se refería a que no existen puntos de corte de EUCAST para el complejo *B. cepacia*, por lo que bastantes participantes manifestaron haber utilizado en este control los puntos de corte del CLSI. Otros participantes señalaron haber utilizado los puntos de corte PK-PD, o bien los de *Pseudomonas aeruginosa* de EUCAST.

Seis participantes comentaron que mediante MALDI-TOF habían identificado la cepa como *B. cenocepacia* pero que habían preferido informarla como complejo *B. cepacia*. Por último, hubo 5 centros que efectuaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento conceftazidima o meropenem.

Madrid, 22 de noviembre de 2022



C/ Agustín de Betancourt, 13
Entrepanta - 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-3/22

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.