

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-4/22

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 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 72 años que presentaba como antecedentes patológicos de interés hipertensión arterial y diabetes y que, tras una caída casual, había sufrido una herida abierta en la pierna izquierda con gran destrucción tisular. La paciente fue llevada a puertas de urgencias de su hospital de área por notar en las 48 horas posteriores un dolor intenso en la zona de la herida, así como aumento del calor local, fiebre de 38,1°C, sudoración profusa, taquicardia y malestar general. En la exploración, se observaba una piel edematosa de coloración pálida marmórea con flictenas hemorrágicas y un exudado serosanguinolento. Se realizó el desbridamiento de la herida y se tomó una muestra del exudado purulento que fue remitido al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico. La tinción de Gram revelaba la presencia de numerosos leucocitos polimorfonucleares, hematíes y bacilos grampositivos cortos y gruesos y a las 48 h se produjo el crecimiento 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.

### VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Clostridium perfringens* (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.

B-4/22

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*) correspondientes a los microorganismos anaerobios y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes a *C. perfringens*.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 13.0-2023)	CLSI (M100S32-2022)
Penicilina	0,047	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Piperacilina-tazobactam	0,047	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Meropenem	0,064	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Clindamicina	0,094	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Metronidazol	0,38	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Vancomicina	0,5	Sensible con dosificación estándar	No interpretado

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 236 centros inscritos en Bacteriología, de los que 216 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 91,5%, similar al del último control (92,8%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*C. perfringens*). Como se puede observar en la tabla 2, la inmensa mayoría de los centros participantes (207, el 95,8%) identificaron correctamente la especie de la cepa control, y algunas de las

identificaciones incorrectas se corresponden a resultados cruzados con controles de bacteriología mensual remitidos al mismo tiempo.

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

Identificación	Número	%
<i>Clostridium perfringens</i>	207	95,8
<i>Proteus mirabilis</i>	3	1,4
<i>Clostridium ramosum</i>	2	0,9
Género <i>Clostridium</i>	2	0,9
<i>Prevotella bivia</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus warneri</i>	1	0,5
Total	216	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 69,0% de los centros (149) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 141 (65,2%) la informa como el único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 67 centros (31,0%), y como único método diagnóstico por el 25,0%. Respecto a las pruebas manuales, fueron informadas por 13 laboratorios (6,0%), en dosde ellos (0,9%) de forma única. Por último, hubo 2 centros (0,9%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para identificar la cepa, uno de ellos mediante secuenciación de última generación (tabla 3).

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

Método	Número	%
Espectrometría de masas	141	65,2
Comercial	54	25,0
Manual + comercial	7	3,2
Comercial + espectrometría de masas	4	1,8
Manual + espectrometría de masas	3	1,4
Manual	2	0,9
Aglutinación	1	0,5
Comercial + inmunocromatografía	1	0,5
Manual + comercial + espectrometría de masas	1	0,5

Secuenciación	1	0,5
Secuenciación de última generación (NGS)	1	0,5
Total	216	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (93 centros), seguido del MALDI-TOF de VITEK® MS (44 centros) de bioMérieux y de las tarjetas VITEK® 2 (28 centros), también de bioMérieux.

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	100	47,4	99,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	47	22,3	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	30	14,2	93,3
API® 20 A (bioMérieux)	16	7,6	100,0
MicroScan (Beckman Coulter)	7	3,3	42,8
Rapid ID 32A (bioMérieux)	7	3,3	85,7
Rapid ANA II (ThermoScientific™)	3	1,4	100,0
API® 20 NE (bioMérieux) <sup>a</sup>	1	0,5	100,0
Total	211	100,0	96,2

<sup>a</sup>Este sistema no permite identificar *C. perfringens*.

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 *C. perfringens*, con la única excepción del MicroScan. No obstante, hay que tener en cuenta que algunas de las identificaciones informadas por los participantes (*Prevotella bivia* y *Proteus mirabilis*) corresponden a respuestas cruzadas con otras cepas del Programa de Control de Calidad SEIMC.

**Tabla 5. Resultados de identificación de *C. perfringens* con los sistemas comerciales más empleados<sup>a</sup>.**

Sistema	Número	<i>C. perfringens</i>	<i>C. ramosum</i>	Otras Identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	100	95 (99,0)	0	1 (1,0) <sup>b</sup>
MALDI-TOF (VITEK® MS)	47	46 (100,0)	0	0
VITEK® 2 (bioMérieux)	30	28 (93,3)	0	2 (6,7) <sup>c</sup>
API® 20 A (bioMérieux)	16	16 (100,0)	0	0

MicroScan (Beckman Coulter)	7	3 (42,8)	2 (28,6)	2 (28,6) <sup>d</sup>
Rapid ID 32A (bioMérieux)	7	6 (85,7)	0	1 (14,3) <sup>e</sup>

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

<sup>b</sup>*Prevotella bivia* (1).

<sup>c</sup>*Proteus mirabilis* (1), *Staphylococcus warneri* (1).

<sup>d</sup>*Proteus mirabilis*(2).

<sup>e</sup>Género *Clostridium*(1).

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 211 centros que realizaron una identificación mínima de género *Clostridium*. De ellos, 14 laboratorios no realizaron el estudio de sensibilidad, mientras que otros 2 centros no introdujeron ningún antibiótico en la nueva aplicación, por lo que se analizaron un total de 195 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante tiras de gradiente de concentración fue de 134, en 93 de los cuales (47,7%) como único método realizado. Hubo 77 laboratorios (39,5%) que emplearon una técnica de difusión en disco-placa, de los que 30 (15,4%) lo hicieron de forma única. La microdilución en caldo fue informada por 18 laboratorios (9,2%), mientras que el método de la concentración crítica se utilizó por 21 laboratorios (10,8%). Solamente hubo 2 participantes (1,0%) que no especificaron el método empleado (tabla 6).

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

Método	Número	%
Tiras de gradiente de concentración	93	47,7
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	31	15,9
Disco-placa	30	15,4
Concentración crítica	11	5,7
Microdilución	10	5,1
Concentración crítica + disco-placa + tira de gradiente de concentración	7	3,6
Microdilución + disco-placa	5	2,6
Disco-placa + concentración crítica	3	1,5
Microdilución + tira de gradiente de concentración	2	1,0
Microdilución + disco-placa + tira de gradiente de concentración	1	0,5
No informa	2	1,0
Total	195	100,0

Sobre un total de 153 respuestas, los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron las tiras de Etest® de bioMérieux (68,0%), seguidas de la galería ATB™ ANA también de bioMérieux (11,1%), y de las tiras MIC Test Strip de Liofilchem® (10,5%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

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

Marca	Número	%
Etest® (bioMérieux)	104	68,0
ATB™ ANA (bioMérieux)	17	11,1
MIC Test Strip (Liofilchem®)	16	10,5
Sensititre™ (ThermoScientific)	5	3,3
VITEK® 2 (bioMérieux)	4	2,6
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	2	1,3
MICRONAUT (Merlin Diagnostika)	2	1,3
No informa <sup>a</sup>	3	1,9
Total	153	100,0

<sup>a</sup>Métodos: tiras de gradiente de concentración (2), 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 195 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Clostridium*, 169 (86,7%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 16 laboratorios (8,2%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que hubo 7 laboratorios (5,1%) que utilizaron criterios de ambos comités. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Marca	Número	%
EUCAST	169	86,7
CLSI	16	8,2
CLSI + EUCAST	10	5,1
Total	195	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 32 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/ SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amoxicilina-clavulánico	74	69 (93,2)	0	1 (1,4)	4 (5,4)	0
Clindamicina	187	184 (98,5)	1 (0,5)	1 (0,5)	1 (0,5)	0
Imipenem	56	56 (100,0)	0	0	0	0
Meropenem	119	118 (99,2)	1 (0,8)	0	0	0
Metronidazol	173	161 (93,0)	0	11 (6,4)	1 (0,6)	0
Penicilina	182	175 (96,2)	0	6 (3,3)	1 (0,5)	0
Piperacilina-tazobactam	148	144 (97,3)	1 (0,7)	3 (2,0)	0	0
Vancomicina	130	129 (99,2)	1 (0,8)	0	0	0

<sup>a</sup>Los 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 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 216 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 201 laboratorios (93,1%) afirmaron no haberlo utilizado, 8 centros (3,7%) sí lo requirieron y los 7 restantes (3,2%) lo emplearon sólo parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (5 centros) se refería a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con penicilina asociada a clindamicina junto con desbridamiento quirúrgico. Hubo 3 centros que comentaron explícitamente que la paciente sufría un cuadro de gangrena gaseosa postraumática.

Por último, dos centros explicaron la dificultad de crecimiento de la cepa, por lo que no habían podido realizar el antibiograma.

Madrid, 9 de febrero de 2023



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.