

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B424

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 liofilizado 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 liofilos 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 preparado con dos cepas diferentes, con el objeto de preparar una matriz más similar a la muestra original. No obstante, los participantes debían introducir en la aplicación informática únicamente el resultado del microorganismo que considerasen patógeno. La historia clínica correspondía a la de una paciente de 47 años sin antecedentes patológicos de interés, que acudía al Servicio de Urgencias por presentar un cuadro de 24 horas de evolución con diarrea abundante (8-10 deposiciones que habían llegado a ser sanguinolentas al final del día), náuseas, vómitos, dolor abdominal de tipo cólico y fiebre de hasta 38,3°C. La paciente presentaba un regular estado general, con sequedad de piel y mucosas, ligera taquicardia, y la exploración abdominal revelaba dolor leve-moderado a la palpación, sin masas ni megalias y leve aumento del peristaltismo intestinal. En la anamnesis, relataba que la noche anterior a la aparición de los síntomas había cenado pavo relleno en casa de unos amigos y que tres de los cinco asistentes a la cena, además de ella, presentaban síntomas similares. Ante la sospecha de gastroenteritis invasiva, se recogió una muestra de heces, que fue remitida para coprocultivo al Servicio de Microbiología, aislándose a las 24 horas la bacteria que constituyó el objeto de este control.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el **estudio de sensibilidad** de la cepa remitida que considerasen patógena. Así mismo, podían hacerse los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que se estimasen oportunos.

B424

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Salmonella enterica* (valor asignado de referencia y empleado para el estudio comparativo). Esta identificación se realizó mediante secuenciación de última generación. En dicho estudio de secuenciación se determinó que la cepa pertenecía al serotipo (serovar) Typhimurium, con el perfil antigénico 4:i:1,2.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia se obtuvieron mediante un panel comercial de microdilución en caldo complementado con disco-placa y tiras de gradiente de concentración, y se muestran en la Tabla 1. Como siempre, esta información 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 género *Salmonella* y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes al orden *Enterobacterales*.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 15.02025)	CLSI (M100-Ed352025)
Ampicilina	-	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Cefotaxima	≤0,5	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Ciprofloxacino	≤0,06	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Cotrimoxazol	≤1	Sensible con dosificación estándar	Sensible

PARTICIPACIÓN

La cepa problema se envió a los 231 centros inscritos en Bacteriología, de los cuales 212 remitieron la hoja de respuesta. De estos, hubo un centro que no obtuvo crecimiento, por lo que fueron 211 los participantes con respuestas valorables. Ello supone un porcentaje de participación fue del 91,4%, ligeramente inferior al del último control (95,7%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*S. enterica*). Como se puede observar en la tabla 2, la mayoría de los centros participantes (189, el 89,6%) identificaron correctamente la especie de la cepa control. Respecto al resto de identificaciones, 16 participantes (7,6%) informaron género *Salmonella*, 4 (1,9%) *Salmonella* Paratyphi y los 2 restantes (0,9%) *Salmonella* Typhi. De este modo, el 100,0% de los laboratorios identificaron la cepa como perteneciente al género *Salmonella*.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Salmonella enterica</i>	189	89,6
Género <i>Salmonella</i>	16	7,6
<i>Salmonella</i> Paratyphi	4	1,9
<i>Salmonella</i> Typhi	2	0,9
Total	211	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 66,8% de los centros (141) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 60 (28,4%) la usaron como método único. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 92 centros (43,6%) y de forma aislada por el 19,0% de los mismos. Hubo 76 centros (36,0%) que realizaron alguna aglutinación para *Salmonella*. En cuanto a las pruebas manuales, fueron informadas únicamente por 8 laboratorios (3,8%). Por último, 5 centros (2,3%) realizaron una PCR y otros 5 (2,3%) una PCR en tiempo real para detectar *Salmonella*, mientras que únicamente hubo 2 centros (0,9%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para su identificación. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	60	28,4
Espectrometría de masas + aglutinación	44	20,9
Comercial	40	19,0
Comercial + espectrometría de masas	21	10,0
Comercial + aglutinación	19	9,0
Comercial + espectrometría de masas + aglutinación	7	3,3

Espectrometría de masas + aglutinación + PCR	5	2,3
PCR en tiempo real	5	2,3
Manual + comercial	3	1,4
Manual + espectrometría de masas	3	1,4
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,5
Manual	1	0,5
Manual + comercial + aglutinación	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
Total	211	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación de la cepa se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker, informado por 89 centros, seguido del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (47 centros), del MicroScan de Beckman Coulter (33 centros) y de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (32 centros), obteniéndose con todos ellos una identificación mínima de género *Salmonella*. En la tabla 4 se muestra el porcentaje de identificaciones aceptables (identificación correcta de género y especie, *S. enterica*) obtenido con cada método comercial informado.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% ID aceptable
MALDI-TOF (Bruker)	89	42,5	92,1
MALDI-TOF (VITEK® MS)	47	22,5	97,9
MicroScan (Beckman Coulter)	33	15,8	96,9
VITEK® 2 (bioMérieux)	32	15,3	84,4
Allplex™ (Seegene)	4	1,9	75,0
API® 20 E (bioMérieux)	1	0,5	100,0
BD Phoenix™	1	0,5	100,0
FilmArray® (bioMérieux)	1	0,5	100,0
No informa ^a	1	0,5	100,0
Total	209	100,0	90,0

^aMétodo: comercial + espectrometría de masas.

La capacidad de los sistemas comerciales empleados para identificar la cepa se resume en la Tabla 5.

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

Sistema	Número	<i>S. enterica</i>	Género <i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i> Paratyphi	<i>Salmonella</i> Typhi
MALDI-TOF (Bruker)	89	78 (87,6)	7 (7,9)	4 (4,5)	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	47	46 (97,9)	1 (2,1)	0	0
MicroScan (Beckman Coulter)	33	31 (94,0)	1 (3,0)	0	1 (3,0)
VITEK® 2 (bioMérieux)	32	27 (84,4)	5 (15,6)	0	0
Allplex™ (Seegene)	4	2 (50,0)	1 (25,0)	0	1 (25,0)

^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 centros que realizaron una identificación mínima de género *Salmonella*. De ellos, hubo 2 que no realizaron el estudio de sensibilidad y otros 2 no introdujeron ningún antibiótico en la aplicación, por lo que se analizaron un total de 207 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 188 (90,8%), empleándose como método único por el 75,4% de los mismos. La técnica de difusión en disco-placa fue efectuada por 32 laboratorios (15,5%), de los que 10 (4,8%) la hicieron de forma única. Por último, hubo 30 laboratorios (14,5%) que utilizaron las tiras de gradiente de concentración, uno (0,5%) de forma única (tabla 6).

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	156	75,4
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	18	8,7
Microdilución + Disco-placa	11	5,3
Disco-placa	10	4,8
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	8	3,9
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	3	1,4
Tiras de gradiente de concentración	1	0,5
Total	207	100,0

Respecto a la CMI, los sistemas más utilizados para su obtención fueron los paneles MicroScan de Beckman Coulter (53,7%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 de bioMérieux (41,5%). Estos datos se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas para la obtención de las CMI.

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	101	53,7
VITEK® 2 (bioMérieux)	78	41,5
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	6	3,2
Etest® (bioMérieux)	3	1,6
Total	188	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 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 esta la consignaran en el apartado de comentarios y no en la tabla de respuesta.

Así, de los 207 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Salmonella*, hubo 198 (97,2%) que utilizaron los criterios del EUCAST, mientras que otros 7 (3,4%) emplearon los criterios del CLSI y los 2 restantes (0,9%) 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	198	95,7
CLSI	7	3,4
CLSI + EUCAST	2	0,9
Total	207	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 42 antibióticos diferentes, de los cuales 15 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 la sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible/ SDE	Intermedio/ SEI	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	36	12 (33,3)	0	23 (63,9)	1 (2,8)	0
Amoxicilina-clavulanato	135	118 (87,4)	6 (4,4)	11 (8,2)	0	0
Ampicilina	168	161 (95,8)	0	7 (4,2)	0	0
Cefepima	57	57 (100,0)	0	0	0	0
Cefotaxima	109	108 (99,1)	0	1 (0,9)	0	0
Ceftazidima	80	78 (97,6)	1 (1,2)	1 (1,2)	0	0
Ceftriaxona	55	55 (100,0)	0	0	0	0
Cefuroxima	38	17 (44,7)	4 (10,5)	15 (39,5)	2 (5,3)	0
Ciprofloxacino	199	192 (96,5)	1 (0,5)	5 (2,5)	1 (0,5)	0
Cotrimoxazol	197	196 (99,5)	0	0	1 (0,5)	0
Ertapenem	79	78 (98,7)	0	1 (1,3)	0	0
Gentamicina	43	16 (37,2)	0	26 (60,5)	1 (2,3)	0
Imipenem	42	42 (100,0)	0	0	0	0
Meropenem	81	79 (97,6)	1 (1,2)	1 (1,2)	0	0
Piperacilina-tazobactam	74	73 (98,6)	0	1 (1,4)	0	0

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

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con el valor asignado del estudio de sensibilidad (ampicilina, cefotaxima, ciprofloxacino y cotrimoxazol), 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 211 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 198 laboratorios (93,9%) afirmaron no haberlo utilizado, 2 (0,9%) declararon haberlo requerido y los 11 restantes (5,2%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario más frecuente (32 centros) era que la cepa pertenecía al serotipo Typhimurium. Ocho centros comentaron que la cepa no era aglutinable y otros 4 que presentaba autoaglutinación.

Hubo 5 participantes que señalaron que la muestra remitida contenía, además, un *Citrobacter freundii* / *Citrobacter braakii*. Cuatro centros comentaron que en los casos de gravedad moderada o leve en pacientes inmunocompetentes no se recomendaba el tratamiento antibiótico, ya que podría prolongar el estado de portador.

Por último, tres centros señalaron que deducían la sensibilidad a las fluoroquinolonas utilizando un disco de pefloxacino.

Madrid, 26 de febrero de 2025




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 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.

B424