

1 ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B224

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 una mujer de 77 años con antecedentes de hipertensión arterial y diabetes mellitus que era intervenida mediante duodenopancreatectomía cefálica con técnica de Whipple por un carcinoma de cabeza de páncreas. En el postoperatorio inmediato presentaba dehiscencia parcial de una de las anastomosis y se decidió realizar tratamiento conservador con antibiótico IV y nutrición parenteral. Al séptimo día se produjo un deterioro del estado general de la paciente, con pico febril de 38,5°C, dolor abdominal difuso con sensibilidad a la palpación y, aunque permanecía hemodinámicamente estable, se produjeron signos de disfunción renal aguda con tendencia a la oliguria. En la analítica, leucocitosis (14.000/μL) y valores elevados de la procalcitonina 6 ng/mL y proteína C reactiva 240mg/L. Se inició tratamiento antibiótico de amplio espectro y se realizó TAC abdominal que confirmó la presencia de líquido libre y colecciones entre las asas intestinales. Se decidió realizar una laparotomía exploradora de urgencia, donde se apreció una fístula anastomótica y abundante líquido peritoneal purulento, que se envió al laboratorio para su cultivo bacteriológico, creciendo a las 48 horas el 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.

B224

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Bacteroides fragilis* (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*) correspondientes a los microorganismos anaerobios y del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) correspondientes al género *Bacteroides*.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 14.0-2024)	CLSI (M100S34-2024)
Amoxicilina-clavulánico	1	Sensible con dosificación estándar	No interpretado
Clindamicina	0,125	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Imipenem	0,75	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Metronidazol	0,19	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Piperacilina-tazobactam	1,5	Sensible con dosificación estándar	Sensible

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 231 centros inscritos en Bacteriología, de los que 214 remitieron hoja de respuesta. En una ocasión, tras la siembra de la muestra, no se obtuvo crecimiento, lo que se podría explicar presumiblemente por la no incubación de las placas en atmósfera de anaerobiosis. Así, hubo 213 respuestas analizables, con lo que el porcentaje real de participación fue del 92,2%, ligeramente inferior al del último control (95,2%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*B. fragilis*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros participantes (197, el 92,4%) identificaron correctamente la especie de la cepa control. Cabe destacar que alguna identificación incorrecta se corresponde a resultados cruzados con controles de bacteriología mensual remitidos al mismo tiempo.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Bacteroides fragilis</i>	197	92,4
<i>Bacteroides stercoris</i>	6	2,7
<i>Prevotella oralis</i>	2	0,9
<i>Bacteroides ovatus</i>	1	0,5
<i>Bacteroides vulgatus (Phocaeicola vulgatus)</i>	1	0,5
<i>Prevotella bivia</i>	1	0,5
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus hominis</i>	1	0,5
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	1	0,5
<i>Streptococcus gallolyticus</i> subsp. <i>pasteurianus</i>	1	0,5
Total	213	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 78,9% de los centros (168) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 152 (71,3%) fue como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 56 centros (26,3%) y como único método diagnóstico por el 16,4% de los mismos. Respecto a las pruebas manuales, fueron informadas únicamente por 9 laboratorios (4,2%), 2 de ellos (0,9%) de forma única. Así mismo, hubo 3 centros (1,4%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa, de los que en un caso (0,5%) fue el único método empleado. Por último, hubo un centro (0,5%) que no informó de esta premisa. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 3.

3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	152	71,3
Comercial	35	16,4
Comercial + espectrometría de masas	12	5,7
Manual + comercial	4	1,8
Manual	2	0,9
Manual + comercial + espectrometría de masas	2	0,9
Comercial + inmunocromatografía	1	0,5
Comercial + secuenciación	1	0,5
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,5
Manual + espectrometría de masas	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	213	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (112 centros), seguido del MALDI-TOF VITEK® MS (54 centros) y de las tarjetas VITEK® 2 (23 centros), ambos de bioMérieux.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	112	53,6	99,1
MALDI-TOF (VITEK® MS)	54	25,9	98,1
VITEK® 2 (bioMérieux)	23	11,0	47,8
API® 20 A (bioMérieux)	8	3,8	100,0
MicroScan (Beckman Coulter)	5	2,4	80,0
RapID ID 32 A (bioMérieux)	4	1,9	100,0
RapID™ ANA II System (Remel)	3	1,4	67,0
Total	209	100,0	92,3

La capacidad de los sistemas comerciales empleados para identificar la cepa se resume en la tabla 5, obteniendo todos ellos unos excelentes resultados. Como ya se ha comentado, se ha constatado algunas respuestas cruzadas con otros controles del Programa de Control de Calidad SEIMC enviados al mismo tiempo.

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

Sistema	Número	<i>B. fragilis</i>	<i>B. stercoris</i>	<i>P. oralis</i>	<i>S. gallolyticus</i>	Otras Identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	112	111 (99,1)	0	0	1 (0,9)	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	54	53 (98,1)	0	0	1 (1,9)	0
VITEK® 2	23	11 (47,8)	6 (26,1)	1 (4,4)	0	5 (21,7) ^b
API® 20 A	8	8 (100,0)	0	0	0	0
MicroScan	5	4 (80,0)	0	0	0	1 (20,0) ^c
RapID ID 32 A	4	4 (100,0)	0	0	0	0
RapID™ ANA II System	3	2 (67,0)	0	1 (33,0)	0	0

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

^b*Bacteroides vulgates* (1), *Prevotella bivia* (1), *Sphingomonas paucimobilis* (1), *Staphylococcus epidermidis* (1), *Staphylococcus hominis* (1).

^c*Bacteroides ovatus* (1).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 205 centros que realizaron una identificación mínima de género *Bacteroides*. De ellos, 9 no realizaron el estudio de sensibilidad, mientras que otros 2 centros no introdujeron ningún antibiótico en la aplicación con lo que se analizaron un total de 194 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante tiras de gradiente de concentración fue de 137 (70,6%), 100 de los cuales (51,5%) lo informaron como único método realizado. Hubo 70 laboratorios (36,1%) que emplearon una técnica de difusión en disco-placa, de los que 33 (17,0%) lo hicieron de forma única. La microdilución en caldo fue informada por 20 laboratorios (10,3%), mientras que el método de la concentración crítica se utilizó por 10 laboratorios (5,2%). Por último, hubo un participante (0,5%) que no especificó el método empleado. El conjunto de los métodos informados se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Tiras de gradiente de concentración	100	51,5
Disco-placa	33	17,0
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	30	15,5

Microdilución	10	5,2
Concentración crítica	7	3,6
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	6	3,1
Microdilución + disco-placa	4	2,1
Disco-placa + concentración crítica	2	1,0
Concentración crítica + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	194	100,0

El análisis de un total de 150 respuestas mostró que los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron las tiras de Etest® de bioMérieux (72,0%), seguidas de las tiras MIC Test Strip de Liofilchem® (12,0%) y de la galería ATB™ ANA de bioMérieux (6,7%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
Etest® (bioMérieux)	108	72,0
MIC Test Strip (Liofilchem®)	18	12,0
ATB™ ANA (bioMérieux)	10	6,7
Sensititre™ (Thermo Scientific™)	5	3,4
VITEK® (bioMérieux)	4	2,7
Micronaut (Merlin Diagnostika)	3	2,0
MicroScan (Beckman)	1	0,6
No específica ^a	1	0,6
Total	150	100,0

^aNo específica marca de las tiras de gradiente de concentración.

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 194 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Bacteroides*, hubo 179 (92,3%) que utilizaron los criterios del EUCAST, 7 (3,6%) los criterios del CLSI y los 8 restantes (4,1%) emplearon 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	179	92,3
CLSI + EUCAST	8	4,1
CLSI	7	3,6
Total	194	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 29 antibióticos diferentes, de los cuales 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 ^a				
		Sensible/ SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amoxicilina-clavulánico	167	152 (91,0)	0	14 (8,4)	0	1 (0,6)
Clindamicina	181	155 (85,6)	0	24 (13,3)	2 (1,1)	0
Ertapenem	36	34 (94,4)	0	2 (5,6)	0	0
Imipenem	96	95 (99,0)	0	1 (1,0)	0	0
Meropenem	132	127 (96,2)	1 (0,8)	4 (3,0)	0	0
Metronidazol	179	176 (98,3)	0	3 (1,7)	0	0
Penicilina	63	1 (1,6)	0	60 (95,2)	2 (3,2)	0
Piperacilina-tazobactam	165	141 (85,5)	0	24 (14,5)	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), 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 analizados, con algunos errores anecdóticos, con la única excepción de la piperacilina-tazobactam, en la que se observó una moderada discrepancia entre los centros (de los 24

resultados discrepantes 12 emplearon tiras de E-test, 4 MIC Strip, 2 discos bioMerieux, 1 Microscan, 1 Vitek, 1 Sensititre, y 1 discos BBL). Ello se debe a que la cepa presenta, según el antibiograma de referencia, una CMI de 1,5 µg/mL. El punto de corte de la categoría de sensible a este antimicrobiano para EUCAST es de 2 µg/mL y de 4 µg/mL para CLSI (con dos diluciones más la cepa sería resistente).

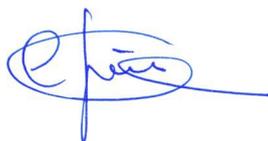
UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, de los 213 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 199 laboratorios (93,4%) afirmaron no haberlo utilizado, 8 centros (3,8%) declararon el haberlo requerido y los 6 centros restantes (2,8%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario se refería a recomendaciones terapéuticas (4 centros), principalmente el tratamiento con metronidazol, piperacilina-tazobactam o carbapenemas, asociado a drenaje quirúrgico. Tres centros señalaron que la clindamicina no se debía utilizar en monoterapia. Por último, 3 participantes señalaron que *B. fragilis* era un microorganismo anaerobio estricto y otros 2 centros comentaron que la cepa era productora de β-lactamasa.

Madrid, 19 de septiembre de 2024




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.

B224

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.