

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-1/22

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 a un paciente varón de 67 años, que acudía al servicio de Urgencias por presentar una lesión en forma de tumefacción en el pie derecho, fiebre de 38,3°C y mal estado general de hacía 2 días de evolución. El paciente había referido empeoramiento en los últimos días de una úlcera plantar de un mes de evolución. Como antecedentes médicos de interés, destacaba *diabetes mellitus* tipo I con mal control glucémico, retinopatía diabética y hábito tabáquico (30 cigarrillos/día), así como numerosos ingresos hospitalarios por reagudizaciones de su enfermedad pulmonar obstructiva crónica mal controlada. A la exploración física, se observaba un pie derecho edematoso, tumefacto, enrojecido y con incremento local de temperatura, predominantemente en la planta, el dorso y la cara medial del pie y el tobillo. A nivel plantar, se observaba una úlcera de 2 cm de diámetro entre las cabezas del 1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> metatarsianos con fondo esfacelado, mal olor y una flictena adyacente. Tras un desbridamiento inicial del tejido desvitalizado, se realizó toma de muestra para cultivo microbiológico. A las 24 horas, creció en los medios de cultivo habituales, la bacteria 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.

B-1/22

## VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Pseudomonas aeruginosa* (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, complementado con tiras de gradiente de concentración y difusión con discos, 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 *Pseudomonas*.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 12.0-2022)	CLSI (M100S31-2021)
Piperacilina-tazobactam	16	Sensible con exposición incrementada	Sensible
Ceftazidima	16	Resistente	Intermedio
Cefepima	16	Resistente	Intermedio
Imipenema	>8	Resistente	Resistente
Meropenema	>8	Resistente	Resistente
Aztreonam	4	Sensible con exposición incrementada	Sensible
Gentamicina	>8	Evidencia insuficiente	Resistente
Tobramicina	>8	Resistente	Resistente
Amikacina	>32	Resistente	Resistente
Ciprofloxacino	>2	Resistente	Resistente
Colistina	≤2	Sensible con dosificación estándar	Sensible dosis dependiente

En base a los dos laboratorios utilizados para obtener el valor asignado, la cepa de *P. aeruginosa* remitida presentaba como característica fenotípica especial el ser productora de una carbapenemasa de tipo VIM (caracterizada como VIM-20).

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 237 centros inscritos en Bacteriología, de los que 218 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 92,0%, similar al del último control (93,2%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*P. aeruginosa*). Como se puede observar en la tabla 2, la totalidad de los centros participantes (100,0%) identificaron correctamente la especie.

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

Identificación	Número	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	218	100,0
Total	218	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 54,6% de los centros (119) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, en 105 (48,2%) de ellos como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 104 centros (47,7%), y como único método diagnóstico por el 36,7% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, se informaron por 11 laboratorios (5,0%), 2 de ellos (0,9%) de forma única. Por último, hubo 1 centro (0,5%) que realizó un estudio de secuenciación de última generación para identificar la cepa. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

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

Método	Número	%
Espectrometría de masas	105	48,2
Comercial	80	36,7
Comercial + espectrometría de masas	10	4,5
Manual + comercial	7	3,2

Comercial + inmunocromatografía	6	2,7
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	3	1,3
Manual	2	0,9
Aglutinación	1	0,5
Comercial + aglutinación + inmunocromatografía	1	0,5
Manual + espectrometría de masas	1	0,5
Manual + PCR	1	0,5
Secuenciación de última generación (NGS)	1	0,5
Total	218	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (75 centros), seguido de los paneles MicroScan (49 centros), de las tarjetas VITEK® 2 (44 centros) y del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (42 centros), obteniendo un excelente índice de aciertos.

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	75	35,2	100,0
Micro Scan (Beckman Coulter)	49	23,0	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	44	20,7	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	42	19,7	100,0
BD Phoenix™	2	0,9	100,0
API® 20 NE (bioMérieux)	1	0,5	100,0
Total	213	100,0	100,0

## 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 la identificación de *P. aeruginosa*. Uno de ellos no realizó el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 217 antibiogramas. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 210 (96,8%), empleándose como método único en el 74,2% de los mismos. Hubo 42 laboratorios (19,4%) que utilizaron las tiras de gradiente de concentración, en todos los casos combinadas con otro

método. Por último, la técnica de difusión en disco-placa fue empleada por 32 laboratorios (14,7%), de los que 4 (1,8%) lo hicieron de forma única. Todos estos datos se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución	161	74,2
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	24	11,1
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	15	6,9
Microdilución + disco-placa	10	4,6
Disco-placa	4	1,8
Disco-placa+ tiras de gradiente de concentración	3	1,4
Total	217	100,0

Los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI mediante los métodos de microdilución fueron los paneles de MicroScan (50,5%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (43,8%). El conjunto de las marcas que se emplearon se detalla en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.**

Marca	Número	%
MicroScan (BeckmanCoulter)	107	50,5
VITEK® 2 (bioMérieux)	93	43,8
BD Phoenix™ (BectonDickinson)	6	2,8
Sensititre™ (Thermo Fisher)	2	0,9
Etest® (bioMérieux)	1	0,5
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	0,5
Micronaut (MerlinDiagnostika)	1	0,5
No informa <sup>a</sup>	1	0,5
Total	212	100,0

<sup>a</sup>Métodos: 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 217 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de *P. aeruginosa*, 203 (93,5%) utilizaron los criterios del EUCAST y los 14 restantes (6,5%) los del CLSI. Estos datos se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.**

Marca	Número	%
EUCAST	203	93,5
CLSI	14	6,5
Total	217	100,0

En la tabla 8 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 40 antibióticos diferentes, pero tan solo 16 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 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Nº	Categorización <sup>a</sup>				
		Sensible / SDE	Intermedio/ SEI/SDD	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Piperacilina	32	4 (12,5)	3 (9,4)	25 (78,1)	0	0
Piperacilina-tazobactam	200	34 (17,0)	64 (32,0)	100 (50,0)	2 (1,0)	0
Ceftazidima	208	3 (1,4)	16 (7,7)	189 (90,9)	0	0
Ceftazidima-avibactam	110	4 (3,6)	1 (0,9)	105 (95,5)	0	0
Ceftolozano-tazobactam	137	1 (0,7)	1 (0,7)	134 (97,9)	1 (0,7)	0
Cefepima	185	3 (1,6)	23 (12,4)	159 (86,0)	0	0
Imipenem	202	0	2 (1,0)	200 (99,0)	0	0
Meropenem	203	1 (0,5)	0	202 (99,5)	0	0

Aztreonam	176	31 (17,6)	108 (61,4)	36 (20,5)	1 (0,5)	0
Gentamicina	138	1 (0,7)	0	135 (97,8)	0	2 (1,5)
Tobramicina	187	2 (1,1)	0	185 (98,9)	0	0
Amikacina	179	27 (15,1)	11 (6,2)	138 (77,1)	3 (1,6)	0
Ciprofloxacino	198	0	3 (1,5)	195 (98,5)	0	0
Levofloxacino	91	0	0	91 (100,0)	0	0
Colistina	192	180 (93,8)	2 (1,0)	8 (4,2)	2 (1,0)	0
Fosfomicina	30	16 (53,3)	0	8 (26,7)	6 (20,0)	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 la única excepción del aztreonam y de la piperacilina-tazobactam, donde se observó una moderada discrepancia entre los centros. Respecto al aztreonam, la cepa presentaba una CMI de 4-8 µg/mL, que se interpretarían como sensibles con exposición incrementada en base a EUCAST, pero sensibles para CLSI. En cuanto a la piperacilina-tazobactam, la cepa presentaba una CMI de 16-32 µg/mL. Con una CMI de 16 µg/mL, la cepa sería sensible con exposición incrementada para EUCAST aunque sensible para CLSI, mientras que con una CMI de 32 µg/mL sería resistente según EUCAST pero intermedio en base a CLSI.

## CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Como ya se ha mencionado, la cepa de *P. aeruginosa* remitida era productora de una metabelactamasa (MBL) de tipo VIM. De los 218 participantes con la identificación de *P. aeruginosa*, 155(71,1%) realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa. El conjunto de los comentarios efectuados se ha resumido en la tabla 9.

Los comentarios más frecuentes fueron que la cepa era productora de VIM (126 centros, el 57,8%), que se trataba de una cepa multirresistente (8 centros, el 3,6%), o bien que era productora de una cefalosporinas a de alto nivel y resistente a las carbapenemas (7 centros, el 3,2%).

**Tabla 9. Detección de la característica fenotípica especial.**

Marca	Número	%
Cepa productora de VIM	126	57,8
Cepa multirresistente	8	3,6
Cepa productora de cefalosporinas a de alto nivel + resistente a las carbapenemas	7	3,2
Cepa extremadamente resistente (XDR)	5	2,3

B-1/22

Cepa productora de MBL	5	2,3
Cepa productora de carbapenemasa	2	0,9
Cepa hiperproductora de AmpC	1	0,5
Cepa resistente a las carbapenemas	1	0,5
No informan	63	28,9
Total	218	100,0

### UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

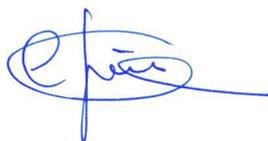
Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, de los 218 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 217 laboratorios (99,5%) afirmaron no haberlo utilizado, mientras que el centro restante (0,5%) sí lo utilizó.

### COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, los principales comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas (n=4), principalmente con aztreonam combinado con ceftazidima-avibactam o colistina. Dos centros comentaron que había sinergia entre aztreonam y ceftazidima-avibactam, mientras que otro centro no observó sinergia entre ellos.

Por último, dos centros recomendaron el aislamiento del paciente.

Madrid, 1 de junio de 2022

  
C/ Agustín de Betancourt, 13  
Entrepantana - 28003 Madrid  
NIF: G-78387057

B-1/22

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.