

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-2/22

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 la de un paciente varón de 61 años con insuficiencia renal crónica en tratamiento sustitutivo mediante diálisis peritoneal. El paciente acudió a puertas de urgencias de su hospital de zona por presentar un cuadro de malestar general, escalofríos, febrícula y dolor abdominal de cinco días de evolución, acompañado en las 48 horas previas de náuseas y vómitos. A la exploración, presentaba regular estado general, cierta palidez cutáneo-mucosa y dolor a la palpación abdominal. Además, el líquido de diálisis peritoneal tenía un aspecto turbio y la analítica revelaba un recuento celular con más de 100 leucocitos/ $\mu$ L. Ante la sospecha de peritonitis secundaria a infección del líquido de diálisis peritoneal, se remitió una muestra del líquido peritoneal al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y micológico, aislándose a las 24 horas 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-2/22

## VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Enterococcus faecium* (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 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 *Enterococcus*.

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

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 12.0-2022)	CLSI (M100S31-2021)
Ampicilina	>8	Resistente	Resistente
Daptomicina	4	No interpretado	Sensible dosis dependiente
Estreptomina 1.000	>1.000	Resistente	Resistente
Gentamicina 500	>500	Resistente	Resistente
Levofloxacino	>4	Resistente	Resistente
Linezolid	>256	Resistente	Resistente
Penicilina	>8	No interpretado	Resistente
Teicoplanina	96	Resistente	Resistente
Tetraciclina	>8	No interpretado	Resistente
Vancomicina	>256	Resistente	Resistente

En base a los dos laboratorios utilizados para el valor asignado, la cepa de *E. faecium* remitida presentaba como característica fenotípica especial el ser resistente a los glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina) con el fenotipo VanA, confirmado con la detección del gen *vanA*.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 237 centros inscritos en Bacteriología, de los que 224 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 94,5%, similar al del último control (92,0%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*E. faecium*). Como se puede observar en la tabla 2, la gran mayoría de los centros participantes (210, el 93,8%) identificaron correctamente la especie de la cepa control.

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

Identificación	Número	%
<i>Enterococcus faecium</i>	210	93,8
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	9	4,1
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	0,9
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	0,4
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1	0,4
Género <i>Enterococcus</i>	1	0,4
Total	224	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 60,7% de los centros (136) emplearon la espectrometría de masas para la identificación, de los que 115 (51,4%) la usaron como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 98 centros (el 43,8%) y como único método diagnóstico por el 30,4% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, fueron informadas por 10 laboratorios (4,5%), 2 de ellos (0,9%) de forma única. Por último, 8 centros (3,6%) realizaron una aglutinación frente a los antígenos de Lancefield, mientras que hubo 2 centros (0,9%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para identificar la cepa, uno de ellos mediante secuenciación de última generación. La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 3.

B-2/22

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

Método	Número	%
Espectrometría de masas	115	51,4
Comercial	68	30,4
Comercial + espectrometría de masas	16	7,2
Manual + comercial	6	2,7
Comercial + aglutinación	5	2,2
Comercial + inmunocromatografía	3	1,4
Espectrometría de masas + aglutinación + PCR	2	0,9
Manual	2	0,9
Manual + espectrometría de masas	2	0,9
Espectrometría de masas + aglutinación	1	0,4
PCR a tiempo real	1	0,4
Secuenciación	1	0,4
Secuenciación de última generación (NGS)	1	0,4
No informa	1	0,4
Total	224	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (89 centros), seguido del MALDI-TOF de VITEK® MS (45 centros) y de las tarjetas VITEK® 2 (45 centros), ambos bioMérieux.

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

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	89	40,6	95,5
MALDI-TOF (VITEK® MS)	45	20,5	100,0
VITEK® 2 (bioMérieux)	45	20,5	100,0
MicroScan (Beckman Coulter)	36	16,5	77,8
API® 20 STREP (bioMérieux)	2	0,9	100,0
BD Phoenix™	1	0,5	100,0

B-2/22

FilmArray® (bioMérieux)	1	0,5	100,0
Total	219	100,0	94,5

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Todos ellos, con la excepción del panel MicroScan, obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de *E. faecium*. Respecto a los paneles MicroScan, 8 de los 36 centros que emplearon este sistema (22,2%) respondieron erróneamente la especie *Enterococcus casseliflavus*.

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

Sistema	Número	<i>E. faecium</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. faecalis</i>	Otras identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	89	85 (95,5)	1 (1,1)	1 (1,1)	2 (2,3)
MALDI-TOF (VITEK® MS)	45	45 (100,0)	0	0	0
VITEK® 2 (bioMérieux)	45	45 (100,0)	0	0	0
MicroScan (Beckman Coulter)	36	28 (77,8)	8 (22,2)	0	0

<sup>a</sup>Los 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 222 centros que realizaron una identificación mínima de género *Enterococcus*. De ellos, 2 laboratorios no realizaron el estudio de sensibilidad, mientras que otro centro no introdujo ningún antibiótico en la nueva aplicación, por lo que se analizaron un total de 219 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 213 (97,3%), empleándose como método único en el 63,0% de los casos. Hubo 67 laboratorios (30,6%) que utilizaron las tiras de gradiente de concentración, de forma aislada por un solo centro (0,5%). La técnica de difusión en disco-placa fue realizada por 28 de los centros (12,8%), de los cuales un 1,3% fue de forma única (tabla 6).

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

Método	Número	%
Microdilución	138	63,0
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	52	23,7
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	13	6,0

B-2/22

Microdilución + disco-placa	10	4,6
Disco-placa	3	1,3
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	2	0,9
Tira de gradiente de concentración	1	0,5
Total	219	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 (50,9%), seguidos de las tarjetas VITEK® 2 (43,8%). El conjunto de las marcas que se emplearon se detalla en la tabla 7.

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

Marca	Número	%
MicroScan (Beckman Coulter)	107	50,9
VITEK® 2 (bioMérieux)	92	43,8
BD Phoenix™ (Becton Dickinson)	8	3,8
Etest® (bioMérieux)	1	0,5
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	0,5
Sensititre™ (Thermo Fisher)	1	0,5
Total	210	100,0

<sup>a</sup>Indicar

## 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 219 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Enterococcus*, 204 (93,2%) utilizaron los criterios del EUCAST y los 15 restantes (6,8%) los del CLSI. Estos datos se muestran en la tabla 8.

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

Marca	Número	%
EUCAST	204	93,2
CLSI	15	6,8
Total	219	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 39 antibióticos diferentes, pero tan solo 18 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-clavulanato	36	0	0	36 (100,0)	0	0
Ampicilina	204	0	0	204 (100,0)	0	0
Ciprofloxacino	101	0	0	99 (98,0)	2 (2,0)	0
Cotrimoxazol	30	4 (13,3)	16 (53,3)	5 (16,7)	2 (6,7)	3 (10,0)
Daptomicina	94	28 (29,8)	12 (12,7)	28 (29,8)	15 (16,0)	11 (11,7)
Eritromicina	64	0	0	63 (98,4)	0	1 (1,6)
Estreptomicina de alta carga	101	5 (5,0)	0	96 (95,0)	0	0
Fosfomicina	37	34 (91,9)	0	1 (2,7)	2 (5,4)	0
Gentamicina de alta carga	128	0	0	128 (100,0)	0	0
Imipenem	83	0	1 (1,2)	82 (98,8)	0	0
Kanamicina 500	31	0	0	31 (100,0)	0	0
Levofloxacino	114	0	0	112 (98,2)	2 (1,8)	0
Linezolid	208	4 (1,9)	1 (0,5)	202 (97,1)	1 (0,5)	0

B-2/22

Penicilina	32	0	0	32 (100,0)	0	0
Quinupristina-dalfopristina	86	60 (69,7)	24 (27,9)	1 (1,2)	1 (1,2)	0
Teicoplanina	202	1 (0,5)	0	201 (99,5)	0	0
Tigeciclina	117	114 (97,4)	0	2 (1,7)	1 (0,9)	0
Vancomicina	211	1 (0,5)	0	210 (99,5)	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, y con la única excepción de la daptomicina, en la que se observó una moderada discrepancia entre los centros. Según el valor asignado del antibiograma (en base a dos laboratorios que actuaron de referencia) la cepa presentaba una CMI de 4 µL para la daptomicina. Según los criterios del CLSI, este valor de la CMI corresponde a sensible dosis dependiente, pero con una dilución mayor ya sería resistente. Según los criterios de EUCAST, la interpretación sería evidencia insuficiente independientemente del valor de la CMI.

## CARACTERÍSTICA FENOTÍPICA ESPECIAL

Como ya se ha mencionado, la cepa de *E. faecium* remitida era resistente a los glucopéptidos ya que era portadora del gen *vanA*. Adicionalmente, también presentaba resistencia al linezolid. De los 219 laboratorios con la identificación mínima de género *Enterococcus* que hicieron antibiograma, 129 (el 58,9%) realizaron uno o más comentarios acerca de la resistencia de esta cepa. El conjunto de estos comentarios se resume en la tabla 10.

Los comentarios más frecuentes fueron que la cepa presentaba el fenotipo VanA (71 centros, el 32,4%), o que manifestaba el fenotipo VanA junto con resistencia a la linezolid (25 centros, el 11,4%).

**Tabla 10. Detección de la característica fenotípica especial.**

Marca	Número	%
Fenotipo VanA / genotipo <i>vanA</i>	71	32,4
Fenotipo VanA y resistencia a linezolid	25	11,4
Cepa resistente a los glucopéptidos	10	4,5
Cepa resistente a los glucopéptidos y a linezolid	10	4,5
Cepa multirresistente / panresistente	7	3,2
Genotipo <i>vanA/vanB</i>	5	2,3

B-2/22

Genotipo <i>vanA/vanB</i> y resistente a linezolid	1	0,5
No informa	90	41,1
Total	219	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 224 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los siguientes datos: 215 laboratorios (96,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 5 centros (2,2%) sí lo requirieron y los 4 restantes (1,8%) lo emplearon sólo parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Además de los comentarios expuestos anteriormente, 11 centros efectuaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con daptomicina a altas dosis, tigeciclina o quinupristina/dalfopristina. Seis centros recomendaron el aislamiento del paciente.

Por último, respecto al mecanismo de resistencia al linezolid de la cepa, 5 centros comentaron que poseía el gen *oprA* mientras que 4 centros señalaron que la detección del gen *chr* había sido negativa.

Madrid, 18 de agosto de 2022

  
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.

B-2/22

**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.

B-2/22