

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE BACTERIOLOGÍA CONTROL B-2/23

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 la de un varón de 44 años que acudía al servicio de Urgencias por presentar síntomas de grave infección del tracto respiratorio inferior. Como antecedentes de interés, cabía destacar una serología positiva para VIH-1 y el consumo de drogas por vía parenteral. Se instauró antibioticoterapia por vía endovenosa. Tras la mejora clínica inicial, presentó varios picos febriles a los 10 días de tratamiento, por lo que se extrajeron dos hemocultivos seriados y se inició tratamiento con vancomicina. También se decidió la retirada del catéter central, cuya punta fue remitida al servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico. A las 48 horas de incubación creció, a partir de los hemocultivos y de la siembra del catéter, 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.

VALOR ASIGNADO

La cepa fue identificada como *Bacillus licheniformis* (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 complementadas con 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 *Bacillus*.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización	
		EUCAST (V 13.0-2023)	CLSI (M45, 3ª ed.-2016)
Penicilina	0,047	No interpretado	Sensible
Imipenem	0,064	Sensible con dosificación estándar	Sensible
Clindamicina	8	Resistente	Resistente
Gentamicina	0,125	No interpretado	Sensible
Vancomicina	0,5	Sensible con dosificación estándar	Sensible

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 236 centros inscritos en Bacteriología, de los que 225 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 95,3%, similar al del último control (94,9%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC únicamente consideró respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*B. licheniformis*). Como se puede observar en la tabla 2, la mayoría de los centros participantes (195, el 86,7%) identificaron correctamente la especie de la cepa control.

Tabla 2. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Bacillus licheniformis</i>	195	86,7
Género <i>Bacillus</i>	10	4,5

<i>Bacillus cereus</i>	6	2,7
Bacilo grampositivo	3	1,4
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	1,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	0,9
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	0,4
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	1	0,4
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	1	0,4
<i>Leifsonia aquatica</i>	1	0,4
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	1	0,4
<i>Serratia plymuthica</i>	1	0,4
Total	225	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, el 81,3% de los centros (183) emplearon la espectrometría de masas para identificar la cepa, de los que 168 (74,7%) la informaron como único método. Las técnicas comerciales fueron utilizadas por 31 centros (13,8%) y como único método diagnóstico por el 7,1% de los mismos. En cuanto a las pruebas manuales, se informaron por 23 laboratorios (10,2%), 10 de ellos (4,5%) de forma única. Hubo 2 centros (0,9%) que recurrieron a un estudio de secuenciación para la identificación, uno de ellos por secuenciación de última generación. Por último, hubo 7 participantes (3,1%) que no informaron de esta premisa. La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	168	74,7
Comercial	16	7,1
Manual	10	4,5
Comercial + espectrometría de masas	8	3,6
Manual + espectrometría de masas	7	3,1
Manual + comercial	6	2,7
Comercial + secuenciación	1	0,4
Secuenciación	1	0,4

Secuenciación de última generación (NGS)	1	0,4
No informa	7	3,1
Total	225	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para la identificación se muestran en la tabla 4. Los más empleados fueron el MALDI-TOF de Bruker (121 centros), seguido del MALDI-TOF de VITEK® MS (62 centros) de bioMérieux y de las tarjetas VITEK® 2 (12 centros), también de bioMérieux.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	121	59,0	99,2
MALDI-TOF (VITEK® MS)	62	30,2	98,4
VITEK® 2 (bioMérieux)	12	5,8	25,0
API® CORYNE (bioMérieux)	4	2,0	25,0
MicroScan (Beckman Coulter)	3	1,5	67,0
BD Phoenix™	2	1,0	100,0
API® 50 CH (bioMérieux)	1	0,5	100,0
Total	205	100,0	92,7

La capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. De ellos, el MALDI-TOF de Bruker y el MALDI-TOF de VITEK® MS obtuvieron un excelente índice de aciertos en la identificación de la cepa remitida, con una única identificación discrepante para cada uno. En cuanto al resto de los sistemas comerciales, el porcentaje de aciertos fue bajo. El equipo BD Phoenix™ y la galería API® 50 CH de bioMérieux fueron empleados por muy pocos centros, por lo que no se pueden extraer conclusiones valorables.

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

Sistema	Número	<i>B. licheniformis</i>	<i>B. cereus</i>	Otras Identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	121	120 (99,2)	0	1(0,8) ^b
MALDI-TOF (VITEK® MS)	62	61 (98,4)	1 (1,6)	0
VITEK® 2 (bioMérieux)	12	3 (25,0)	1 (8,3)	8 (66,7) ^c
API® CORYNE	4	1 (25,0)	0	3 (75,0) ^d

(bioMérieux)

MicroScan (Beckman)	3	2 (67,0)	0	1 (33,0) ^e
---------------------	---	----------	---	-----------------------

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

^b*Paenibacillus polymyxa*(n=1).

^c*Enterococcus faecalis* (n=3), *Aggregatibacter aphrophilus* (n=1), *Agrobacterium tumefaciens* (n=1), género *Bacillus* (n=1), *Pseudomonasaeruginosa* (n=1), *Serratia plymuthica* (n=1).

^dBacilo grampositivo n=(2), *Leifsonia aquatica* (n=1).

^e*Aeromonas hydrophila* (n=1)

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 212 centros que realizaron una identificación mínima de género *Bacillus* (incluyendo la respuesta *Paenibacillus polymyxa*). De ellos, 12 laboratorios no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 200 antibiogramas.

De estos 200 laboratorios hubo 107 (53,5%) que emplearon una técnica de difusión en disco-placa, de los que 60 (30,0%) lo hicieron de forma única. El número de participantes que determinó la CMI mediante tiras de gradiente de concentración fue de 103, 61 de los cuales (30,5%) como único método realizado. La microdilución en caldo fue informada por 38 laboratorios (19,0%), mientras que el método de la concentración crítica fue efectuado por 1 laboratorio (0,5%). Por último, hubo 6 participantes (3,0%) que no especificaron el método empleado. Todos estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Tira de gradiente de concentración	61	30,5
Disco-placa	60	30,0
Disco-placa + tira de gradiente de concentración	34	17,0
Microdilución	20	10,0
Microdilución + disco-placa	10	5,0
Microdilución + tira de gradiente de concentración	6	3,0
Microdilución + disco-placa + tira de gradiente de concentración	2	1,0
Disco-placa + concentración crítica	1	0,5
No informa	6	3,0
Total	200	100,0

El análisis de un total de 114 respuestas mostró que los sistemas más utilizados para la obtención de la CMI fueron las tiras de Etest® de bioMérieux (57,0%), seguidas de las tiras MIC Test Strip de Liofilchem® (15,7%) y de los paneles MicroScan de Beckman (14,9%). El conjunto de las marcas empleadas se detalla en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma

Marca	Número	%
Etest® (bioMérieux)	65	57,0
MIC Test Strip (Liofilchem®)	18	15,7
MicroScan (Beckman Coulter)	17	14,9
VITEK® 2 (bioMérieux)	8	7,0
Sensititre™ (Thermo Fisher)	2	1,8
Wider (Soria Melguizo)	2	1,8
ATB™ ANA(bioMérieux)	1	0,9
BD Phoenix™	1	0,9
Total	114	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 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 200 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Bacillus*, 182 (91,0%) utilizaron los criterios del EUCAST, otros 7 laboratorios (3,5%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que hubo 11 laboratorios (5,5%) 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	182	91,0
CLSI + EUCAST	11	5,5
CLSI	7	3,5
Total	200	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 10 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
Ciprofloxacino	168	59 (35,1)	105 (62,5)	3 (1,8)	1 (0,6)	0
Clindamicina	167	11 (6,6)	0	155 (92,8)	1 (0,6)	0
Eritromicina	140	11 (7,9)	1 (0,7)	128 (91,4)	0	0
Gentamicina	31	30 (96,8)	0	0	1 (3,2)	0
Imipenem	149	146 (98,0)	0	2 (1,3)	1 (0,7)	0
Levofloxacino	125	38 (30,4)	85 (68,0)	2 (1,6)	0	0
Linezolid	153	150 (98,0)	0	2 (1,3)	1 (0,7)	0
Meropenem	132	127 (96,2)	0	4 (3,0)	1 (0,8)	0
Penicilina	31	27 (87,0)	0	2 (6,5)	2 (6,5)	0
Vancomicina	190	187 (98,5)	1 (0,5)	1 (0,5)	1 (0,5)	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, con algunos errores anecdóticos. Llama la atención que algunos participantes respondan criterios de EUCAST para determinados antimicrobianos para los que no existen puntos de corte.

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 225 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables se obtuvieron los

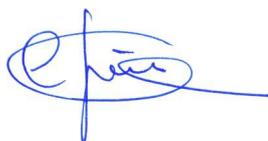
siguientes datos: 183 laboratorios (81,3%) afirmaron no haberlo utilizado, 19 centros (8,5%) sí lo requirieron y los 23 restantes (10,2%) lo emplearon sólo de forma parcial.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario mayoritario (11 centros) se refería a que el microorganismo era responsable de un cuadro de bacteriemia asociada a catéter en un paciente inmunodeprimido, por lo que era valorable. Hubo seis centros que realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con vancomicina junto con la retirada del catéter.

Por último, cinco centros señalaron que no disponían de MALDI-TOF para identificar la especie de la cepa remitida de *Bacillus*.

Madrid, 13 de septiembre 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.

B-2/23