

En este control se remitió a los participantes un producto liofilizado idéntico para todos, que contenía una cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Enterococcus faecalis*. **La característica más destacada de esta cepa, y objetivo primordial de este control, era su resistencia a glucopéptidos.** La muestra de control se acompañaba de un supuesto clínico de un paciente portador de sonda urinaria y que hacía especial referencia a la transmisión intrahospitalaria, aspecto característico de estas cepas resistentes.

Además de los objetivos comunes a todos los controles, como demostrar la capacidad de los laboratorios participantes para identificar la bacteria y poner a prueba sus sistemas de determinación de la sensibilidad antibiótica, se buscaba familiarizar a los participantes con la detección de este tipo de resistencia y con las consecuencias que puede acarrear desde el punto de vista clínico. Por esta razón, se solicitó de los participantes que hiciesen comentarios, juicios clínicos, pautas de actuación, etc. relativos al caso. La revisión temática adjunta al presente análisis de resultados hará mención especial a los conocimientos básicos y estará orientada por algunos de los resultados aquí obtenidos. En total, el control se envió a 223 laboratorios.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

Se recibió contestación de 189 laboratorios (84,7%); todos remitieron resultados de identificación de la cepa objeto del control de la cepa objeto del control. Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

	Número	%
<i>Enterococcus faecalis</i>	177	93,7
<i>Streptococcus faecalis</i>	4	2,1
<i>Enterococcus durans</i>	3	1,6
<i>Enterococcus faecium</i>	2	1,1
<i>Estreptococo grupo D</i>	2	1,1
Género <i>Enterococcus</i>	1	0,5
Total	189	100,0

Por lo que respecta a este objetivo, se demuestra la capacidad de los laboratorios para identificar esta especie bacteriana. Si asumimos también como "correcta" la identificación *Streptococcus faecalis*, el porcentaje de participantes que coinciden con los laboratorios de referencia supera el 95%.

Los métodos empleados para la identificación fueron los siguientes:

	Número	%
Manual	20	10,6
Manual + Comercial	7	3,7
Comercial	160	84,7
No informan	2	1,1
Total	189	100,0

De los 20 participantes cuya identificación se basa en métodos manuales, un total de 19 (95,0%) llegan a la identificación correcta de especie. Los 3 laboratorios que identificaron la cepa como *Enterococcus durans* emplearon el sistema Pasco, y los 2 para quienes la especie identificada fue *Enterococcus faecium* utilizaron la galería API20 Strep.

La tabla siguiente muestra los métodos comerciales empleados por los participantes (tres laboratorios utilizan dos métodos comerciales distintos):

Método comercial	Número	%
API Strep	37	22,2
Microscan	68	40,7

Vitek	33	19,8
Pasco	23	13,8
Sensititre	6	3,6
Otros métodos comerciales	3	1,8
Total	167 ^a	100,0

^aTres laboratorios utilizan dos métodos comerciales

Las características fundamentales que permitieron clasificar la cepa como *E. faecalis*, de acuerdo con el laboratorio de referencia, fueron:

Prueba	Resultado ^a	Prueba	Resultado ^a	Prueba	Resultado ^a
Tinción de Gram	CGPC	Bilis-Esculina	+	Trealosa	+
Catalasa	-	PYR	+	Manosa	+
Movilidad	-	Piruvato	-	Arabinosa	-
6,5% NaCl	+	Arginina	+	Rafinosa	-
Pigmento	-	Lactosa	+	Sacarosa	+
Nitratos	-	Manitol	+	Ribosa	+
Voges Proskauer	+	Sorbitol	+	Inulina	-

^aCGPC: cocos grampositivos en cadena; PYR: pirrolidín aminopeptidasa

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS

Se presentan aquí los datos correspondientes a los laboratorios que enviaron resultados de pruebas de sensibilidad, aunque la identificación no fuese coincidente en género y especie con la de los centros de referencia. Los 189 laboratorios que remitieron la hoja de resultados incluían datos de sensibilidad y son, por tanto, motivo de análisis.

Como se ha mencionado, la detección de la resistencia a los glicopéptidos, y en particular a la vancomicina, constituía el objetivo más importante en este control. **Hay que resaltar que 13 de los 189 laboratorios, el 6,9%, no detectan que la cepa en cuestión posea esa característica.** A juicio de los responsables del Control, el porcentaje anterior, aunque no despreciable, es aceptable.

La mayor parte de los participantes utilizan métodos comerciales cuantitativos, solos o acompañados por el método cualitativo disco-placa. En total, 123 (65,12%) dan resultados de sensibilidad basándose sólo en la determinación de las CMI; 35 (18,5%), lo hacen mediante la técnica disco-placa exclusivamente y 23 (12,2%) basan sus resultados en ambos métodos a la vez.

Método	Número	%
CMI	123	65,1
Disco-placa	35	18,5
Disco-placa + CMI	23	12,2
CMI + E-test®	3	1,6
Disco-placa + E-test®	3	1,6
E-test®	1	0,5
Concentraciones críticas	1	0,5
Total	189	100,0

Los sistemas comerciales utilizados para las pruebas cuantitativas fueron los que se exponen en la tabla.

Sistema comercial	Número	%
Microscan	70	45,8

Vitek	32	20,9
Pasco	29	19,0
Sensititre	13	8,5
E-test®	7	4,6
Otros	3	2,0
No indican	2	1,3
Total	153 ^a	100,0

^aTres laboratorios utilizan dos métodos comerciales a la vez

Los resultados suministrados **por el centro que actuó como laboratorio de referencia para las pruebas de sensibilidad antibiótica** se muestran en la tabla siguiente. La lista se incluye a título meramente informativo, como término de comparación para los participantes. No presupone que los antibióticos incluidos en ella tengan interés terapéutico para las infecciones por *E. faecalis* en general, ni de *E. faecalis* resistente a los glucopéptidos.

Antibiótico	Microdilución A		Microdilución B		E-Test®	
	CMI ^a	Categoría	CMI ^a	Categoría	CMI ^a	Categoría
Amox.-clavulanato ^b	≤ 4	S	≤ 0,5	S		
Ampicilina	2	S	1	S		
Cefotaxima	>32	R	>8	R		
Ciprofloxacino	>2	R	>2	R		
Cotrimoxazol ^b	≤ 2	R ^c	≤ 0,5	R ^c		
Eritromicina	>4	R	>4	R		
Imipenem	≤ 4	S	1	S		
Gentamicina	8	R ^c	>4	R		
Sinergia gentamicina		SI		SI		
Sinergia estreptomina		SI		NO		
Nitrofurantoína	≤ 32	S				
Norfloxacina	>8	R				
Penicilina	1	S	2	S		
Rifampicina	≤ 1	S	1	S		
Teicoplanina	8	R	>16	R	12	R
Tetraciclina	≤ 1	S	0,5	S		
Vancomicina	>16	R	>16	R	>256	R

^amedida en µg/ml

^bexpresado como concentración del primer componente

^ca pesar de la actividad *in vitro*

OPINIÓN DE PROFESIONALES: ANTIBIÓTICOS RECOMENDADOS PARA *E. faecalis*

Se solicitó a tres profesionales con experiencia una lista de los antibióticos más apropiados a incluir en el antibiograma de la cepa en cuestión, considerando esto como un criterio añadido de calidad. Los objetivos teóricos a cumplir por la selección de antibióticos eran: a) tratarse de opciones terapéuticas de primera elección, b) constituir alternativas en ciertas situaciones clínicas, c) servir como criterio adicional en la identificación precisa de la especie bacteriana y d) conveniencia de conocer la situación epidemiológica de la resistencia en nuestro medio.

El número de antibióticos informados por los distintos participantes varía entre 2 y 22 y suele coincidir, en la mayor parte (37,6%), con el número de espacios disponibles en la hoja de resultados (ocho). Un total de 169 laboratorios (89,4%) informa un número de antibióticos igual o menor a aquella cifra.

Experto 1 ^a	Experto 2 ^f	Experto 3
Ampicilina ^b	Ampicilina ^d	Ampicilina ^d
Vancomicina	Vancomicina	Penicilina ^d
Teicoplanina ^c	Teicoplanina ^c	Gentamicina, sinergia ^d
Estreptomicina, sinergia ^d	Gentamicina, sinergia ^d	Vancomicina
Gentamicina, sinergia ^d	Estreptomicina, sinergia ^d	Teicoplanina ^c
Nitrofurantoína ^e	Ciprofloxacino ^e	Nitrofurantoína ^e
	Tetraciclinas ^e	
	Nitrofurantoína ^e	

^ano hay que realizar pruebas de sensibilidad a cualquiera de las cefalosporinas

^ben infecciones graves (bacteriemia, endocarditis, etc.), debería detectarse la producción de de β -lactamasa por un método cromogénico

^cla determinación es útil con el fin de conocer los fenotipos de resistencia.

^dsólo en infecciones graves (bacteriemia, endocarditis, etc.) hay que estudiar la sinergia de β -lactámicos con aminoglucósidos

^esólo en infecciones urinarias

^fno realizar sensibilidad a las cefalosporinas, aztreonam, aminoglucósidos, sulfonamidas y clindamicina, por resistencia intrínseca, ni a cotrimoxazol, por resistencia natural *in vivo*

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla siguiente se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad a los antibióticos informados por un número de participantes igual o superior a 20.

Antibiótico	Informan (número)	Número (% sobre respuestas)		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Ampicilina	177	174 (98,3)	3 (1,7)	0 (0,0)
Amox.-clavulanato	42	42 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Penicilina	91	90 (98,9)	0 (0,0)	1 (1,1)
Imipenem	50	49 (98,0)	0 (0,0)	1 (2,0)
Vancomicina	176	4 (2,3)	1 (0,6)	171 (97,2)
Teicoplanina	124	28 (22,6)	13 (10,5)	83 (66,9)
Gentamicina	42	13 (31,0)	11 (26,1)	18 (42,9)
Sinerg. gentamicina	77	77 (100,0)	--	0 (0,0)
Sinerg. estreptomicina	44	19 (43,2)	--	25 (56,8)
Ciprofloxacino	118	1 (0,9)	0 (0,0)	117 (99,1)
Norfloxacino	52	4 (7,7)	0 (0,0)	48 (92,3)
Eritromicina	29	1 (3,5)	1 (3,5)	27 (93,1)
Rifampicina	20	13 (65,0)	2 (10,0)	5 (25,0)

Cotrimoxazol	45	35 (77,8)	0 (0,0)	10 (22,2)
Tetraciclinas	32	31 (96,9)	0 (0,0)	1 (3,1)
Fosfomicina	42	21 (50,0)	13 (31,0)	8 (19,0)
Nitrofurantoína	82	81 (98,8)	0 (0,0)	1 (1,2)

Merece especial mención analizar los resultados de sensibilidad a los glucopéptidos vancomicina y teicoplanina, objetivo principal de este control. Por lo que respecta al primero de estos antibióticos, la mayoría de laboratorios (97,2%) coincide en considerar la cepa resistente a la vancomicina, al igual que el laboratorio de referencia. El número de laboratorios que informaron que era "Sensible" o "Intermedia", no deja de ser anecdótico, aunque indicativo de la variabilidad estadística. De los 4 laboratorios que la dieron "Sensible", dos realizaron las pruebas de sensibilidad por el método disco-placa, y los otros dos con el sistema comercial Vitek. El laboratorio que informó "Intermedio" a vancomicina utilizó el sistema Sceptor.

Mayores discrepancias se han producido en la interpretación de la sensibilidad a la teicoplanina, lo que puede ser útil para detectar los distintos fenotipos de resistencia (ver más adelante). La tabla siguiente resume los resultados en los laboratorios que utilizaron pruebas cualitativas o cuantitativas, exclusivamente.

	CMI sólo (%)	Disco-placa sólo (%)
Sensible	20 (22,5)	2 (12,5)
Intermedio	11 (12,3)	0 (0,0)
Resistente	58 (65,2)	14 (87,5)
Total	89 (100,0)	16 (100,0)

Puede observarse que el método disco-placa fue más eficiente para detectar la resistencia, aunque la proporción de laboratorios que catalogaron la cepa como "Sensible" no fue despreciable. Las discrepancias fueron mayores mediante la determinación de la CMI. No obstante, a pesar de lo llamativo de aquéllas, no se consideran de especial gravedad, habida cuenta de la dificultad intrínseca de la determinación (concentraciones en el límite, ausencia de criterios de interpretación firmes, etc.). Respecto a los métodos comerciales, llama la atención las diferencias entre ellos. Así, los laboratorios que utilizan los sistemas Microscan y Vitek tienden a informar la cepa como no resistente, porque interpretan las CMIs, correctamente, de acuerdo con los criterios NCCLS que, como veremos más adelante, tienen limitaciones.

Método	Sensible (%)	Intermedio (%)	Resistente (%)	Total (%)
Microscan	14 (29,2)	6 (12,5)	28 (58,3)	48 (100,0)
Pasco	0 (0,0)	3 (13,6)	19 (86,4)	22 (100,0)
Sceptor	1	1	0	2
Vitek	10 (45,5)	3 (13,6)	9 (40,9)	22 (100,0)
Sensititre	0 (0,0)	0 (0,0)	12 (100,0)	12 (100,0)
E-test	1	0	0	1
Disco-placa	2	0	14	16 (100,0)
Total	28	13	82	123 (100,0)

También merece un comentario aparte la interpretación de los resultados de sensibilidad *in vitro* a la gentamicina (excepto para la resistencia de alto nivel) y al cotrimoxazol. La última versión de los criterios del NCCLS indica que deben considerarse como "Resistentes" *in vivo* aunque exista actividad *in vitro*. Una parte importante de los laboratorios participantes no tiene en cuenta esta discordancia.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE SENSIBILIDAD CUANTITATIVA

Por lo que respecta a la sensibilidad cuantitativa, se han analizados los resultados de aquellos antibióticos relacionados con las características de la cepa en cuestión, en este caso una cepa de *E. faecalis* resistente a vancomicina y teicoplanina (fenotipo vanA), siempre que el número de laboratorios que remitían datos fuese superior a veinte. En algunos sistemas automáticos, como el método Vitek, en los que la CMI puede calcularse por extrapolación matemática, los resultados de los participantes podrían estar expresados con valores **mayores o iguales** a una concentración determinada. Con el fin de dar uniformidad al análisis de los resultados, cuando se producía esta situación, la CMI se expresaba como **mayor que** la concentración inmediatamente anterior en series geométricas de razón 2. Por ejemplo, una CMI $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ se ha consignado como $>4 \mu\text{g/ml}$.

Amoxicilina-clavulanato

La tabla siguiente expresa los resultados remitidos por los distintos laboratorios. Fue considerado "Sensible" por el laboratorio de referencia, al igual que la mayoría de participantes. En cinco ocasiones se consigna específicamente que la cepa no era productora de β -lactamasa.

CMI ^a ($\mu\text{g/ml}$)	Número	%
0,5	1	4,5
1	1	4,5
≤ 2	8	36,4
2	1	4,5
≤ 4	10	45,5
≤ 8	1	4,5
Total	22	100,0

^aexpresado como concentración del primer componente

La correspondencia entre CMI y categoría cualitativa fue completa, de acuerdo con las normas de interpretación del NCCLS.

Ampicilina

El valor modal de los resultados coincide con uno de los obtenidos por el laboratorio de referencia. Los resultados se resumen en la tabla siguiente.

CMI ($\mu\text{g/ml}$)	Número	%
$\leq 0,25$	2	1,8
0,25	2	1,8
$\leq 0,5$	2	1,8
0,5	35	30,7
0,75	1	0,9
1	23	20,2
≤ 2	1	0,9
2	46	40,4
4	2	1,8
Total	114	100,0

El laboratorio de referencia la consideró "Sensible". Todos, excepto dos de los participantes, coinciden con esa apreciación. Las excepciones se refieren a dos laboratorios que la consideran "Intermedia", con unas CMI de 1 $\mu\text{g/ml}$ y 2 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente, discrepando, por tanto, con los criterios del NCCLS. En el resto, la interpretación es correcta.

Penicilina

Fue considerada como "Sensible" por el laboratorio de referencia y por todos los participantes. El valor modal de la CMI fue 1 $\mu\text{g/ml}$, coincidente con el de uno de los métodos utilizados por el laboratorio de referencia. Excepto en un centro participante, la interpretación de los resultados fue coherente con los criterios NCCLS. La excepción era quien consideraba "Resistente" la cepa, con una CMI de 2 $\mu\text{g/ml}$.

CMI ($\mu\text{g/ml}$)	Número	%
0,25	1	1,5
0,5	3	4,6
≤ 1	1	1,5
1	29	44,6
2	24	36,9
≤ 4	1	1,5

4	6	9,3
Total	65	100,0

Imipenem

El laboratorio de referencia y todos menos un participante catalogaron la cepa como "Sensible", y la interpretación de las CMI estaba de acuerdo con el NCCLS. La discrepancia del participante mencionado se refería a la interpretación, pues considera que la cepa es "Resistente" con una CMI d4 µg/ml.

CMI (µg/ml)	Número	%
0,25	1	2,9
<= 0,5	2	5,9
0,5	1	2,9
<= 1	8	23,5
<= 2	10	29,4
<= 4	12	35,3
Total	34	100,0

Vancomicina

Como se ha dicho, la detección de la resistencia a los glucopéptidos, constituía el objetivo más importante del control. Por lo que respecta a la vancomicina, el 99,2 % de los laboratorios informan la cepa como "Resistente", al igual que el laboratorio de referencia. El valor modal también coincide con el centro que actuó de referencia (>16 µg/ml).

CMI (µg/ml)	Número	%
16	1	0,8
>16	106	88,3
32	1	0,8
>32	7	5,8
128	1	0,8
>256	4	3,3
Total	120	100,0

La única discrepancia se refiere al laboratorio que informa una CMI de 16 µg/ml y que considera la cepa de sensibilidad "Intermedia", aunque la interpretación sea correcta si se siguen los criterios del NCCLS.

Teicoplanina

Ya se ha mencionado antes que este antibiótico presentó una gran variabilidad en la detección de resistencia y en la interpretación de resultados. Lo mismo ocurre con las CMI, cuyos resultados se exponen a continuación.

CMI (µg/ml)	Número	%
<= 2	1	1,1
<= 4	4	4,4
4	3	3,3
<= 8	1	1,1
8	13	14,4
>8	10	11,1
16	10	11,1
>16	45	50,0

>32	3	3,3
Total	90	100,0

La cepa fue considerada "Resistente" por el laboratorio de referencia, cuyos resultados obtenidos por los diferentes métodos, ya de por sí pronosticaban las dificultades observadas con los participantes. También, los resultados en su conjunto, son un reflejo de la rigidez e insuficiencia de los criterios NCCLS para este antibiótico. Así, el laboratorio de referencia obtuvo con el sistema Microscan una CMI de 8 µg/ml, la cual, de acuerdo con el NCCLS, debiera interpretarse como "Sensible", al igual que hace el propio sistema comercial. Sin embargo, este resultado de la CMI, junto con el correspondiente a la vancomicina, indicaba la presencia de un fenotipo vanA o, lo que es lo mismo, ineficacia clínica de la teicoplanina ("Resistente"). Con otro método comercial (Sensititre), el laboratorio de referencia obtuvo una CMI >16 µg/ml, mientras que con E-test®, la CMI fue de 12 µg/ml, interpretable como "Intermedia". Más adelante, cuando se analicen los comentarios libres de los participantes y en la revisión temática, se volverá a insistir sobre este asunto.

Gentamicina y sinergia entre los β-lactámicos y los aminoglucósidos

Fue catalogada como "Resistente" a gentamicina por el laboratorio de referencia, siguiendo las recomendaciones del NCCLS, con independencia de que los valores de la CMI indicasen una teórica actividad *in vitro*. Con un método, la CMI fue de 8 µg/ml, mientras que con el otro fue >4 µg/ml. Los resultados fueron:

CMI (µg/ml)	Número	%
<= 4	1	4,8
4	2	9,5
>4	1	4,8
8	9	42,9
>8	8	38,1
Total	21	100,0

Respecto a los participantes, sólo 3 de los 21 laboratorios que informan valores de CMI, interpretan correctamente como "Resistente" a la gentamicina con independencia de las CMI obtenidas.

Por lo que se refiere a la detección de alta resistencia a los aminoglucósidos y su relación con la sinergia a los β-lactámicos, el centro de referencia consideró que la cepa era sinérgica con la gentamicina (CMI<500 µg/ml), al igual que todos los participantes que llevan a cabo esta prueba. En cuanto a la estreptomina, juzgó que también existía sinergia, a pesar del resultado en contra que obtuvo dicho laboratorio con uno de los métodos de microdilución comerciales. Esta dificultad también se aprecia entre los participantes, la mitad aproximada de los cuales dice que existe sinergia, y la otra que no.

Ciprofloxacino

Hubo total coincidencia de participantes y centro de referencia a la hora de juzgar la cepa como "Resistente", y la interpretación fue asimismo adecuada en todos los casos. Los resultados se resumen a continuación.

CMI (µg/ml)	Número	%
>2	52	69,3
4	1	1,3
>4	22	29,3
Total	75	100,0

Norfloxacino

Al igual que en el caso anterior hubo total coincidencia entre el centro de referencia y los participantes, así como en la interpretación de los resultados.

CMI (µg/ml)	Número	%
>4	1	3,9
>8	20	76,9
16	2	7,7
>16	2	7,7

>32	1	3,9
Total	26	100,0

Cotrimoxazol

Con esta combinación, se produjo una discordancia entre los valores obtenidos *in vitro* y la correcta interpretación de los resultados. El centro de referencia obtuvo valores teóricamente catalogables como "Sensibles", aunque juzgó que la cepa era "Resistente". Ninguno de los participantes que ofrecen datos cuantitativos hace esta consideración.

CMI ($\mu\text{g/ml}$) ^a	Número	%
$\leq 0,5$	3	11,5
≤ 1	12	46,2
2	1	3,8
≤ 2	10	38,5
Total	26	100,0

^aexpresada como la concentración del primer componente

Nitrofurantoína

Los resultados de los participantes y el centro de referencia fueron muy homogéneos. La CMI obtenida por este último y la del valor modal de los participantes es la misma ($\leq 32 \mu\text{g/ml}$). Salvo uno de los participantes que, obteniendo este mismo valor, juzga que la cepa es "Resistente", todos los demás están de acuerdo en que era "Sensible".

CMI ($\mu\text{g/ml}$)	Número	%
32	1	2,5
≤ 32	39	97,5
Total	40	100,0

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES AL CASO PLANTEADO

En total, 31 participantes (16,4%) hacen mención expresa de algún comentario en sus respuestas. Los comentarios se incluyen, fundamentalmente en dos bloques: de aspectos técnicos microbiológicos y de actitud a tomar en caso de la detección de una cepa de estas características.

La mayor parte de ellos, en total 23, se refieren a cuestiones técnicas relacionadas con la resistencia a los glucopéptidos. Así, 14 de ellos consideran que la cepa tiene un fenotipo vanA, coincidiendo con la apreciación del laboratorio que actuó de referencia. Hay 2 respuestas más en las que, en sintonía con la dificultad de la determinación de la sensibilidad a la teicoplanina, se expone que el fenotipo es vanB. También en esta línea, hay otras 2 que dejan patente su duda: una de ellas no sabe si se trata de una cepa con fenotipo vanA o vanB, y la otra duda entre vanB y vanD. Por último, 5 participantes hacen énfasis en sus comentarios sobre el carácter resistente a los glucopéptidos de la cepa, sin extenderse en consideraciones.

En cuanto a los comentarios de actitud a tomar hay 10 participantes que, conscientes de las características de la cepa y de la adquisición hospitalaria de la infección, insisten en la necesidad de tomar medidas de control epidemiológico (aislamiento, etc.). Sobre la actitud terapéutica se recibieron 3 comentarios: 2 recomiendan tratar con ampicilina esta posible infección urinaria; el otro recomienda tratar con penicilina y gentamicina, habida cuenta de la sinergia demostrada entre ambos fármacos (no hace consideración a la localización de la infección).