

## CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-1/04)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa caracterizada por el laboratorio de referencia como *Legionella pneumophila* serogrupo 1. Se acompañaba de un supuesto clínico de un paciente varón de 68 años de edad, broncopata crónico, en un programa de vacaciones de la tercera edad, que acudió al Servicio de Urgencias de un centro hospitalario por presentar desde hacía 48-72 h un cuadro de malestar general, cefalea, mialgias y fiebre de 39,5°C que se acompañaba de escalofríos, disnea, dolor torácico, tos escasamente productiva, estado confusional y diarrea. Tres compañeros de viaje, que habían compartido establecimiento hotelero, sufrían un cuadro similar por el que habían requerido ingreso hospitalario. En la exploración física se constató una temperatura de 40°C, bradicardia relativa, cierto embotamiento sensorial y signos de consolidación neumónica. El hemograma mostró una leucocitosis de 20.000 leucocitos/ $\mu$ l con desviación izquierda, hiponatremia y niveles de CK elevados. En la radiografía de tórax se observó un infiltrado difuso bilateral. Se tomaron muestras de esputo para cultivo bacteriológico y micobacteriano, así como de orina para detección rápida de antígenos urinarios y se enviaron al laboratorio de microbiología, el cual informó al poco tiempo de una detección rápida positiva. A las 72 h de incubación, el cultivo bacteriológico fue positivo con crecimiento de la cepa objeto del control.

Se solicitó a los participantes la identificación de la cepa y la realización del estudio de sensibilidad si lo consideraban necesario, así como la formulación de los comentarios libres sobre el significado clínico del aislado, la pauta de actuación a seguir, o cualquier otro tipo de comentario técnico.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a 283 laboratorios de los que 253 remitieron la hoja de respuesta. El porcentaje de participación fue del 89,4%, inferior al de otros controles. En tres ocasiones, tras la siembra de la muestra, no se obtuvo crecimiento (1,2%), esto se explica porque *L. pneumophila* requiere medios de cultivo especiales; en 35 no se realizó cultivo de la muestra (13,8%), pues, al sospechar legionelosis, los participantes informaron carecer de las condiciones de bioseguridad necesarias para procesar la muestra o de los medios de cultivo especiales para *Legionella* y tampoco enviaron la muestra a su laboratorio de referencia; en una ocasión no se pudo identificar la cepa por problemas técnicos internos al manipular la muestra (0,4%). De este modo, fueron analizables 214 respuestas y el porcentaje real de participación fue del 75,6%. Se consideraron como válidas para el análisis de los resultados, las respuestas con la identificación mínima de género, lo que supone un total de 208 (97,2%). Como se puede observar en la tabla 1, la mayoría identificó correctamente género y especie (77,1%), aunque este porcentaje es inferior al de otros controles, posiblemente porque esta identificación presentaba una mayor dificultad. Un total de 43 participantes informaron género *Legionella* (20,1%). Del resto, tres informan género *Micrococcus* (1,4%), uno que identifica *Enterococcus faecalis* (0,5%), otro *Staphylococcus saprophyticus* (0,5%) y otro *Stenotrophomonas maltophilia* (0,5%).

**Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.**

Identificación	Número	%
<i>Legionella pneumophila</i>	165	77,1
Género <i>Legionella</i>	43	20,1
Género <i>Micrococcus</i>	3	1,4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	0,5
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0,5
Total	214	100,0

Sin considerar a los 35 participantes que no procesaron la muestra, los métodos más utilizados para la identificación bacteriana fueron los manuales (160 participantes, 73,4%), y de forma exclusiva por 84 (38,5%). Utilizaron la inmunofluorescencia directa (IFD) 61 (28,0%) y de forma única 17 (7,8%). La detección de antígeno por inmunocromatografía (IC) fue usada por 26 participantes (11,9%) y de forma aislada por 12 (5,5%). La aglutinación se utilizó en 28 ocasiones (12,8%) y de forma aislada en 5 (2,3%). Los resultados se resumen en la tabla 2.

**Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.**

Métodos	Número	%
Métodos manuales	84	38,5
inmunofluorescencia directa (IFD)	17	7,8
Inmunocromatografía (IC)	12	5,5
Agglutinación	5	2,3
Manual+IFD	37	17,0
Manual+agglutinación	20	9,2
Manual+IC	10	4,6
Manual+IFD+IC	4	1,8
Manual+agglutinación+IFD	3	1,4
Otros	6	2,8
No informan	20	9,2
Total	218	100,0

Las pruebas que utilizó el laboratorio de referencia para la identificación de la cepa se resumen en la tabla 3.

**Tabla 3. Pruebas de identificación de la cepa remitida para el control.**

Prueba	Resultado	Prueba	Resultado
Gram	BGN <sup>a</sup>	Dependencia de L-cisteína	+
Crecimiento en MacConkey	-	Autofluorescencia	-
Crecimiento en Agar Chocolate	-	Consistencia adherente	+
Crecimiento en Agar Sangre	-	Gelatinasa	+
Crecimiento en medio BCYEa	+	Reducción nitratos	-
Oxidasa	+/-	Ureasa	-

<sup>a</sup>BGN: Bacilos gramnegativos.

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS

### GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los centros que identificaron la bacteria como *L. pneumophila* o como género *Legionella*. Se recibió respuesta del 8,2% de los participantes, porcentaje muy pequeño, lo que es lógico, puesto que la sensibilidad *in vitro* de *Legionella* no se correlaciona con la respuesta clínica, es predecible y, además, no existen criterios normalizados para su realización. De los que informan antibiograma, la mayoría realiza el método de difusión disco-placa (16 participantes, el 7,7%) y en dos ocasiones se determina la CMI mediante E-test®, una de ellas conjuntamente con el método disco-placa.

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia, se indican a efectos meramente descriptivos, ya que no se considera necesario realizar pruebas de sensibilidad en esta bacteria. Dicho laboratorio, mediante una técnica de difusión en disco-placa, obtuvo amplios halos de sensibilidad a eritromicina, claritromicina, telitromicina, levofloxacino, ciprofloxacino y rifampicina.

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren un sólo antibiótico (eritromicina, por considerarse clásicamente como el tratamiento de elección) en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian ocho diferentes. Los antibióticos estudiados mayoritariamente se corresponden al grupo de los macrólidos, fluorquinolonas, ketólidos y rifampicina.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla 4 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad, y están limitados a aquellos participantes cuya identificación fue la aceptada como válida por el Programa de Control de Calidad. En total, se han recibido resultados correspondientes a ocho antibióticos diferentes.

**Tabla 4. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Número	Interpretación <sup>a</sup>			
		No interpretado	Sensible	Intermedio	Resistente
Eritromicina	17	-	17	-	-
Azitromicina	3	-	3	-	-
Ciprofloxacino	9	-	7	1	1
Claritromicina	7	-	7	-	-
Levofloxacino	10	-	10	-	-
Rifampicina	11	-	9	1	1
Cotrimoxazol	5	-	4	-	1
Telitromicina	4	-	4	-	-

<sup>a</sup>Dado el bajo número de pruebas, sólo se expresan los resultados numéricos absolutos.

Analizados los resultados de los participantes desde un punto de vista general, hay una notable coincidencia con los resultados aportados por el laboratorio de referencia para este control. Cabe destacar la uniformidad en la interpretación de los resultados y conviene resaltar que las discrepancias encontradas deben tomarse con cuidado, ya que los datos se refieren a un número muy reducido de antibióticos.

### DETECCIÓN DEL SEROGRUPO DE LA CEPA

En esta ocasión, el Programa de Control de Calidad analizó la detección del serogrupo de la cepa remitida, que en este caso fue informado, por el laboratorio de referencia, como serogrupo 1. De este modo, se clasificó a los participantes de acuerdo a si comentaban o no dicha característica (resultados en la tabla 5). Para la detección del serogrupo los participantes comentan que utilizaron, de forma aislada o en combinación, técnicas de diagnóstico manuales sin especificar, de IFD, de aglutinación y de IC, aunque esta última sólo está indicada para la detección urinaria del antígeno de *L. pneumophila*. Además, el laboratorio de referencia utilizado por dos de los participantes

identificó el subgrupo Pontiac.

**Tabla 5. Detección del serogrupo de la cepa remitida.**

Característica	Número	%
<i>Legionella pneumophila</i> serogrupo 1	72	28,5
Identificación válida sin especificar serogrupo	136	53,7
No detectado por diagnóstico incorrecto	6	2,4
No detectado por contaminación de la muestra	1	0,4
No detectado por ausencia de crecimiento	3	1,2
No procesa la muestra	35	13,8
Total	253	100,0

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control se analizaron 146 hojas de respuesta de participantes que efectuaban algún comentario, a veces varios, por lo que el número total fue de 229. Algunos fueron muy extensos, lo que obligó a sintetizarlos por parte del Programa de Control de Calidad SEIMC, siempre tratando de no desvirtuar la idea que pretendían transmitir. En la tabla 6 se resumen los comentarios técnico-microbiológicos y en la tabla 7 los clínico-terapéuticos.

**Tabla 6. Comentarios técnico-microbiológicos efectuados por los participantes.**

Comentario	Número	% <sup>a</sup>
No realizamos en antibiograma por falta de estandarización	47	32,2
Utilizamos para el cultivo medios selectivos (BCYE, GVPC, BMPA)	32	21,9
<i>Legionella</i> no crece en los medios habituales de cultivo	14	9,6
Se observa un crecimiento leve a las 72 h de incubación en agar chocolate	7	4,8
Se observa crecimiento a los 5 días de incubación	1	0,7
Contaminación del liófilo con hongos	9	6,2
No se recupera la cepa a partir del liófilo	4	2,7
Remitimos la muestra al laboratorio de referencia para identificación o tipificación	17	11,6
No se realiza el cultivo de <i>Legionella</i> por carecer de medios de cultivo	14	9,6
No se realiza el cultivo de <i>Legionella</i> por carecer de condiciones de bioseguridad	9	6,2
Solicitaríamos orina para realizar la detección del antígeno urinario	6	4,1
Solicitaríamos suero del paciente para completar el estudio	2	1,4
Sólo realizamos detección de antígeno urinario de <i>Legionella</i>	1	0,7
Se trata de un bacilo gramnegativo	2	1,4
La oxidasa es positiva	2	1,4
La hidrólisis del hipurato es negativa	2	1,4
La hidrólisis del hipurato es positiva	1	0,7
Total comentarios técnico-microbiológicos	171	117,1

<sup>a</sup>Sobre las 146 respuestas con comentarios.

Como era de esperar, la mayor parte de los comentarios microbiológicos van dirigidos a la falta de criterios normalizados para la realización del estudio de sensibilidad (32,2%) y a la necesidad de medios de cultivo selectivos para bacterias del género *Legionella* (21,9%). Así, el 9,6% comenta que la cepa no crecía en los medios habituales de cultivo, a pesar de que algunos detectan un ligero crecimiento en agar chocolate a las 72 h de incubación. Un parte importante declara no poder procesar la muestra, bien por carecer de medios de cultivo (9,6%) o de condiciones adecuadas de bioseguridad (6,2%). Dos participantes refieren el resultado de identificación y tipificación que les remite su laboratorio de referencia, indicando que se trata del serogrupo 1, subgrupo Pontiac. Algunos informan de características de la cepa como que se trataba de un bacilo gramnegativo, oxidasa positiva y con hidrólisis de hipurato positiva, aunque dos participantes la informaron como negativa. Por último, el 4,8% comenta que su liófilo estaba contaminado, pero a pesar de ello la mayoría consigue aislar la cepa e identificarla.

**Tabla 7. Comentarios clínicos y terapéuticos realizados por los participantes.**

Comentario	Número	% <sup>a</sup>
El tratamiento es un macrólido o una fluorquinolona +/- rifampicina	26	17,7
Tratamiento alternativo: doxiciclina o cotrimoxazol	1	0,7
<i>Legionella pneumophila</i> siempre es sensible a eritromicina	1	0,7
La historia clínica sugiere legionelosis	15	10,2
Se trata de un cuadro de neumonía atípica	2	1,4
Es una enfermedad de declaración obligatoria a Salud Pública	5	3,4
Realizar estudio epidemiológico al hotel y huéspedes	4	2,7
Se trata de un brote en un establecimiento hotelero	4	2,7
Total comentarios clínico-terapéuticos	58	39,5

<sup>a</sup>Sobre las 146 respuestas con comentarios.

Los comentarios clínico-terapéuticos, como en otras ocasiones, se agrupan en dos categorías: los que hacen referencia al tratamiento y los relacionados con las características de la infección. La mayoría de los participantes que comentan la pauta terapéutica recomiendan como tratamiento de elección un macrólido (eritromicina, claritromicina o azitromicina) o una quinolona (ciprofloxacino o levofloxacino) asociados o no, según la gravedad del cuadro, a la rifampicina. Como antibióticos alternativos sugieren doxiciclina o cotrimoxazol. El 2,7% comenta que se trata de un brote en un establecimiento hotelero, por lo que algunos participantes recomiendan realizar un estudio epidemiológico a los huéspedes y en el hotel. El 3,4% informa que se trata de una enfermedad de obligada declaración a Salud Pública. Por último, el 10,2% comenta que la historia clínica era muy sugestiva de legionelosis por lo que algunos centros, a pesar de no realizar ninguna detección, informaron *Legionella pneumophila*, identificación que no fue admitida como respuesta válida por parte del control, ya que para la identificación bacteriana se requiere procesar la muestra.

#### **UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO**

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de la sensibilidad, se obtienen los siguientes datos: 191 (75,5%) laboratorios dicen no utilizarlo, 35 (13,8%) no lo informan y 27 (10,7%) afirman haberlo utilizarlo, 8 de ellos parcialmente, porcentaje superior debido a la dificultad diagnóstica (falta de medios específicos o de condiciones de bioseguridad para trabajar la muestra).