

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-3/05)

En el presente control se envió a los distintos laboratorios participantes un producto liofilizado con una única cepa caracterizada por el laboratorio de referencia como *Neisseria lactamica*. Se acompañaba de un supuesto clínico que correspondía a un niño de 3 años de edad que fue atendido en Urgencias de Pediatría por presentar un cuadro febril de inicio brusco, acompañado de escalofríos, dolor de cabeza, irritación y llanto. El niño estaba bien cuidado y se le habían aplicado correctamente las vacunaciones preceptivas, entre ellas la vacuna antimeningocócica del serotipo C. No existían otros antecedentes patológicos, salvo las enfermedades comunes de la infancia y, en los días previos, un proceso catarral no filiado. En la exploración se constató una fiebre de 39,2°C, rigidez de nuca y lesiones hemorrágicas cutáneas y mucosas, de tipo petequiral. Se obtuvieron dos hemocultivos y se realizó una punción lumbar en la que se obtuvo un líquido con características típicas de infección bacteriana, y en el que mediante las tinciones y el cultivo bacteriológico se estableció el diagnóstico etiológico. El niño no acudía a la guardería, tenía como compañeros de juegos a vecinos del grupo de viviendas y estaba al cuidado continuo de una niñera de 40 años. Aunque no es una práctica habitual, se obtuvo un exudado faríngeo de ésta, que se sembró en los medios y condiciones pertinentes. A las 24 h se obtuvo crecimiento en todos esos medios de la bacteria que es el motivo de este control.

Se solicitó a los participantes que realizaran la **identificación** y si fuese procedente, las **pruebas de sensibilidad** de la cepa obtenido del exudado faríngeo de la cuidadora. Así mismo, se pedía a los participantes que hicieran los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que estimaran oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a 279 laboratorios, de los que 231 (82,8%) remitieron la hoja de respuesta. De ellos, tres participantes informaron no haber obtenido crecimiento tras la resiembra en los medios habituales y otro centro comentó que obtuvo el crecimiento de un contaminante que no era objeto del control, por lo que en realidad fueron 227 laboratorios los que remitieron hojas de respuesta con resultados valorables, siendo el porcentaje de participación real del 81,4%, inferior al de otros controles.

Como se observa en la tabla 1, de los 227 centros que realizaron la identificación de la cepa, la mayoría informó correctamente el género (97,2%). Sólo se aceptó como válida la identificación de especie (*N. lactamica*), por lo que fueron correctas el 81,2% de las respuestas. Hubo dos participantes que informaron *Acinetobacter Iwoffii* (0,9%) y un centro que tan sólo llegó a comentar que se trataba de un diplococo gramnegativo. El resto de las identificaciones fueron informadas por un solo participante. Uno de ellos aportó una identificación correspondiente a una cepa remitida en otro de los controles del Programa, por lo que se insiste de nuevo en la importancia de verificar que el liofilo que se está rehidratando es el que corresponde, puesto que estos errores no pueden ser posteriormente subsanados.

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Neisseria lactamica</i>	184	81,2
<i>Neisseria meningitidis</i>	18	8,0
<i>Neisseria meningitidis</i> serogrupo B	12	5,4
<i>Neisseria meningitidis</i> serogrupo A	3	1,3
<i>Neisseria cinerea</i>	1	0,4
<i>Neisseria polysaccharea</i>	1	0,4
Género <i>Neisseria</i>	1	0,4
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	2	0,9
Diplococo gramnegativo	1	0,4
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	0,4
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	0,4
<i>Haemophilus influenzae</i> serotipo b	1	0,4
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	0,4
Total	227	100,0

Para la identificación de la cepa, los métodos comerciales fueron utilizados por 188 participantes (82,8%), y de forma exclusiva por el 71,0%. Utilizaron métodos manuales 55 laboratorios (24,2%), el 12,3% como único método. Hubo un centro que empleó una técnica de PCR para la identificación, sin especificar si se trataba de un método de desarrollo propio o de un equipo comercial. El 4,4% de los restantes laboratorios no informó del método empleado (tabla 2).

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Métodos	Número	%
Comercial	161	71,0
Manual	28	12,3
Manual + comercial	27	11,9
No informa del método empleado	10	4,4
PCR	1	0,4
Total	227	100,0

En la tabla 3 se especifican las marcas y sistemas comerciales utilizados para la identificación; de los 188 participantes que los emplearon, hubo 10 centros que informaron dos sistemas comerciales, por lo que el número total que se analiza es de 198 equipos. Las galerías bioquímicas Api (72,2%) fueron el sistema mayoritariamente empleado, en particular la galería Api NH, como cabía esperar, con un porcentaje de utilización del 68,7%. Les sigue en frecuencia el sistema Microscan, usado por 19 participantes (9,6%), los equipos Vitek de bioMérieux, empleados por 12 centros (6,1%) y el panel Neisseria 4H de Bio-Rad usado por otros 11 centros (5,6%). Tan sólo tres participantes (1,5%) no especificaron la marca utilizada.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Marca comercial	Número	%
Api NH	136	68,7
Api sin especificar	6	3,0
Api 20NE	1	0,5
Microscan	19	9,6
Vitek sin especificar	11	5,6
Vitek 2	1	0,5
Panel Neisseria 4H Bio-Rad	11	5,6
Rapid NH (Remel)	5	2,5
BBL Crystal	5	2,5
No especifica marca utilizada	3	1,5
Total	198	100,0

En la tabla 4, se resumen las pruebas bioquímicas básicas que caracterizan a *N. lactamica*; el laboratorio de referencia empleó la galería comercial Api NH para la identificación de la cepa. Es importante resaltar que *N. lactamica* se diferencia de *N. meningitidis*, en la fermentación de la lactosa, que es positiva para *N. lactamica* y negativa para *N. meningitidis*, así como en la producción de β -galactosidasa, que es positiva para la primera de las especies, mientras que, por el contrario, *N. meningitidis* tiene capacidad de producir γ -glutamylaminopeptidasa. En este sentido y respecto a las identificaciones discordantes obtenidas, se debe señalar que, de los 33 laboratorios que identificaron la cepa como *N. meningitidis*, fueron ocho los participantes (24,2%) que refirieron el empleo de una técnica manual y 4 centros (12,1%) no aportaron información al respecto; en 21 ocasiones (63,6%) se empleó un método comercial para su identificación, siendo doce los centros que utilizaron la galería comercial Api (en 10 casos Api NH y en dos casos Api sin especificar), lo que supone un 57,1% de las identificaciones de *N. meningitidis* realizadas por métodos comerciales; en tres casos (14,3%) se empleó el equipo Microscan y en otros tres casos (14,3%) no se informó acerca de la marca comercial empleada.

Tabla 4. Pruebas de identificación de la cepa remitida para control^a.

Prueba	Resultado	Prueba	Resultado
Gram	DCGN	Acidificación glucosa	+
Crecimiento en McConkey	-	Fermentación maltosa	+
Oxidasa	+	Fermentación lactosa	+
Catalasa	+	Fermentación sucrosa	-
Crecimiento en ACH, AS (22°C)	V	Fermentación fructosa	-
Crecimiento en AEN (35°C)	+	Reducción de NO ₃	-
Medios MTM, ML y NYC	+	β -galactosidasa	+

^aAbreviaturas: DCGN: diplococos gramnegativos; V: variable; ACH: agar chocolate; AS: agar sangre; AEN: agar enriquecido; MTM: Thayer-Martin; NYC: New York City Medium.

VALORACIÓN GENERAL DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

El objetivo fundamental que se perseguía cuando se diseñó este control era comprobar la capacidad de los participantes en la identificación de una cepa de *Neisseria* saprofita que, en ocasiones, ha sido confundida con el meningococo. Las razones para esta confusión son la capacidad de crecimiento, aunque pobre, en medios selectivos de *Neisseria* (Thayer-Martin, Martin-Lewis, New York City, etc.), así como el compartir localizaciones anatómicas, como en el caso de los portadores faríngeos. Del análisis de los resultados llama poderosamente la atención que 33 de los participantes (el 14,7% de las respuestas evaluadas confundieron esta neiseria saprófita con el meningococo, y todavía más que 12 participantes la tipificasen como del grupo B y tres como del grupo A. Se deduce que hay que ser muy cauto a la hora de identificar cepas procedentes de esta localización anatómica.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad, se tuvo en cuenta a los centros que realizaron una identificación

mínima de género (género *Neisseria*), aún a pesar que tan sólo se consideró totalmente correcta la identificación de *N. lactamica*. Así, el número de respuestas analizables fue de 121. Como se puede observar en la tabla 5, la tendencia mayoritaria fue realizar una técnica de difusión en disco-placa (67,8%), empleada como método único en el 57,0% de los casos y en combinación con una técnica de detección de CMI mediante E-test® o microdilución en el 9,1% y 1,7% de los casos, respectivamente. Destaca también, por su frecuencia, la determinación de CMI mediante microdilución que fue usada por 18 centros (14,9%), de los cuales, en 15 ocasiones (12,4%) la emplearon como método único. La determinación de la CMI mediante E-test® fue realizada por 14 participantes como único método, lo que supone un 11,6% del total, aunque en otras 11 ocasiones se empleó como complementario de la técnica de difusión en disco-placa para el estudio de determinados antibióticos. Los datos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Disco-placa	69	57,0
CMI ^a	15	12,4
E-test®	14	11,6
Disco-placa + E-test®	11	9,1
No especificado	7	5,7
Disco-placa + CMI	2	1,7
Concentración crítica	2	1,7
CMI + E-test®	1	0,8
Total	121	100,0

^aCMI obtenida por microdilución.

En la tabla 6 se resumen las marcas comerciales empleadas por los 18 participantes que usaron una técnica de microdilución. El sistema más utilizado fue Sensititre (50,0%), seguido por Microscan (27,8%) y Wider (16,7%). Tan sólo un centro no especificó la marca comercial.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Sensititre	9	50,0
Microscan	5	27,8
Wider	3	16,7
No específica	1	5,5
Total	18	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica, tras incubación a 37°C durante 24 h suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia se muestran en la tabla 7. Los antibióticos referidos en este listado se incluyen a modo de comparación para los participantes, sin que suponga una recomendación de uso terapéutico, y sin ser necesarios en el caso que nos ocupa. El estudio de sensibilidad se realizó mediante la técnica de difusión.

Tabla 7. Sensibilidad antibiótica de referencia.

Antibiótico	Interpretación ^a
Ampicilina	S
Amoxicilina-clavulanato	S
Cefotaxima	S
Cefuroxima	S
Ciprofloxacino	S
Claritromicina	S
Imipenem	S
Cotrimoxazol	S

^aS: sensible.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales una lista de los antibióticos que considerasen más apropiados para el estudio de sensibilidad de la cepa, puesto que el Programa de Control de Calidad SEIMC considera que la adecuación de la selección de antibióticos que hace cada laboratorio puede considerarse como un criterio añadido de la calidad que ofrece. Todos ellos coincidieron en las siguientes apreciaciones: a) la selección de los antibióticos se ha realizado en función del caso presentado y de la posibilidad de que se tratase de un meningococo, antes de que se conociese la identificación de especie, pero una vez conocida ésta, no estaría indicada la realización del antibiograma, b) de forma general, no se recomienda la realización del estudio de sensibilidad para *N. lactamica*, salvo en situaciones clínicas concretas o excepcionales, c) no existen criterios normalizados para llevar a cabo e interpretar dichas pruebas de sensibilidad.

Tabla 8. Antibiograma ideal según tres profesionales.

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Penicilina	Penicilina	Penicilina
Cefotaxima	Cefotaxima	Ampicilina
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Cefotaxima
Rifampicina	Rifampicina	Ciprofloxacino
Cotrimoxazol		Rifampicina
	Tetraciclinas	

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren sólo tres antibióticos en sus pruebas de sensibilidad a otros que estudian 12 diferentes. Dentro de la variedad de antibióticos informados, los estudiados por un mayor número de participantes se ajustan bastante a los perfiles aportados por los tres expertos consultados (penicilina, cefotaxima, ciprofloxacino y rifampicina). Hubo dos antibióticos que fueron informados por bastantes participantes, pero sólo recomendados por uno de los expertos: la ampicilina (amoxicilina) y el cotrimoxazol. El segundo de los expertos consideró también importante, informar la sensibilidad a las tetraciclinas, que fueron estudiadas por un número considerable de participantes.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla 9 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad para todos aquellos antibióticos que fueron estudiados por un mínimo de cuatro laboratorios, incluyendo sólo los participantes que realizaron al menos una adecuada aproximación genérica e informaron, por lo tanto, que la cepa remitida se correspondía con una *N. lactamica* u otra especie perteneciente al género *Neisseria*. De acuerdo con estas premisas, en total se han evaluado los resultados correspondientes a 16 antibióticos diferentes.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	No interpreta	Intermedio	Resistente
Amoxicilina-clavulanato	38	37 (97,4)	1 (2,6)	–	–
Ampicilina/amoxicilina	60	57 (95,0)	2 (3,3)	–	1 (1,7)
Azitromicina	7	6 (85,7)	1 (14,3)	–	–
Ciprofloxacino	72	71 (98,6)	1 (1,4)	–	–
Ceftriaxona	32	31 (96,9)	1 (3,1)	–	–
Cefotaxima	95	93 (97,9)	2 (2,1)	–	–
Cefuroxima	26	25 (96,2)	1 (3,8)	–	–
Cloranfenicol	27	26 (96,3)	1 (3,7)	–	–
Rifampicina	63	62 (98,4)	–	–	1 (1,6)
Levofloxacino	10	10 (100,0)	–	–	–
Imipenem	19	19 (100,0)	–	–	–
Penicilina	95	88 (92,6)	2 (2,1)	1 (1,1)	4 (4,2)
Doxiciclina	4	4 (100,0)	–	–	–
Tetraciclinas	17	15 (88,2)	1 (5,9)	1 (5,9)	–
Eritromicina	21	15 (71,4)	1 (4,8)	1 (4,8)	4 (19,0)
Cotrimoxazol	37	30 (81,1)	2 (5,4)	1 (2,7)	4 (10,8)

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

El análisis general de los resultados de los participantes muestra un elevado porcentaje de concordancia con los datos aportados por el laboratorio de referencia. Destaca, por lo tanto, la uniformidad de los resultados y de la interpretación que hacen los participantes, lo que era de esperar dado el perfil de sensibilidad de la cepa objeto de este control.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE SENSIBILIDAD CUANTITATIVA

Dado el escaso número de participantes que realizaron el estudio de sensibilidad mediante la determinación de la CMI, y puesto que no existe antibiograma estandarizado por el *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI, antes NCCLS), ni siquiera indicación de realizar estudio de sensibilidad, no se ha realizado estudio comparativo de los resultados cuantitativos aportados por los participantes.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que se refiere a la utilización del laboratorio externo para la identificación de la cepa o para la realización del estudio de sensibilidad, de los 227 laboratorios que enviaron hoja de respuesta con resultados valorables, 206 (90,8%) señalaron que no lo habían utilizado, cinco centros (2,2%) afirmaron haberlo requerido, tres de ellos (1,3%)

parcialmente. Un número considerable de participantes, 16 centros (7,0%), no aportó información alguna sobre este dato, por lo que desde el Programa de Control de Calidad se sigue insistiendo en la importancia de consignar adecuadamente los datos requeridos en las hojas de respuesta para que se pueda hacer un análisis veraz de los mismos.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control fueron 132 de los 227 participantes que remitieron hoja de respuesta analizable, los que efectuaron algún comentario (58,1%), a veces varios, sobre la cepa objeto del estudio y la historia clínica remitida. Dado que algunos centros realizaron más de uno, han sido analizados un número total de 166. Algunos fueron muy extensos, lo que obligó a sintetizarlos por parte del Programa de Control de Calidad SEIMC, intentando no desvirtuar la idea que se pretendía transmitir.

En la tabla 10 se resumen los comentarios técnico-microbiológicos. Como era de esperar, la mayor parte de ellos hacen referencia a la condición de la cepa como bacteria comensal o como integrante de la flora habitual de la orofaringe, y un porcentaje muy elevado de los éstos comenta que no está indicada la realización del antibiograma, bien precisamente por este motivo o por tratarse de un estudio de portadores. Por lo que respecta a otras características de la cepa, en 14 ocasiones los laboratorios participantes comentaron que se trataba de una cepa no productora de β -lactamasa (otros dos informaron que no producía penicilinas) y tres centros afirmaron que se trataba de una cepa productora de β -galactosidasa. Por otra parte, hubo tres laboratorios que informaron de una sensibilidad disminuida a la penicilina y otros dos laboratorios que comentan que no existen criterios de interpretación del antibiograma por parte del CLSI.

Tabla 10. Comentarios técnico-microbiológicos efectuados por los participantes.

Comentario	Número	% ^a
Bacteria comensal. No procede realización de antibiograma	43	32,6
Flora habitual de orofaringe	15	11,4
Cepa no productora de β -lactamasa	14	10,6
Bacteria comensal	10	7,6
Flora habitual de orofaringe, que raramente causa infección	5	3,8
No procede realización de antibiograma	5	3,8
No procede realización de antibiograma en estudio de portadores	3	2,3
Cepa productora de β -galactosidasa	3	2,3
Sensibilidad disminuida a penicilina	3	2,3
Agglutinaciones meningococo negativas	3	2,3
Cepa no productora de penicilinas	2	1,5
El sistema API NH no identificó la cepa	2	1,5
No existen criterios de interpretación del antibiograma por el CLSI	2	1,5
<i>N. meningitidis</i> no seroagrupable	2	1,5
Bacteria comensal. No procede realización de antibiograma, ni informar aislamiento	1	0,8
Cepa productora de penicilinas	1	0,8
No se informa ciprofloxacino por no estar indicado en niños	1	0,8
A veces hay falsas agglutinaciones con equipos comerciales (aglutina al B)	1	0,8
Cepa con crecimiento moderado en Thayer-Martin. Capnófila.	1	0,8
Existen casos de transmisión de resistencias entre <i>N. lactamica</i> y <i>N. meningitidis</i>	1	0,8
<i>N. lactamica</i> presenta reacción cruzada con <i>N. meningitidis</i> Y/W 135	1	0,8
No disponibles reactivos para tipificación y antibiograma	1	0,8
No reacciones cruzadas con antiseros anti meningococo A, B y C.	1	0,8
Se realiza antibiograma para estudiar epidemiología de la cepa	1	0,8
No se obtiene crecimiento suficiente para antibiograma y serotipado	1	0,8
Total comentarios técnico-microbiológicos	123	93,2

^aSobre las 132 respuestas con comentarios.

Como en otras ocasiones, los comentarios clínico-terapéuticos se pueden agrupar en distintas líneas. Por una parte destacan los que hacen referencia al tratamiento y por otra, los relacionados con las características del cuadro clínico y el proceso infeccioso que nos ocupa. Todos ellos quedan reflejados en la tabla 11. Los participantes que comentaron la pauta terapéutica, recomendaron como tratamiento de elección la penicilina, ofreciendo algunos de ellos tratamientos alternativos como ampicilina o cefalosporinas de tercera generación. En cuanto al resto de los comentarios, un número considerable de participantes indicaron que la cepa estudiada no presentaba relación con el cuadro clínico de meningitis en el niño, siendo cinco los centros que afirmaron que dicha especie bacteriana es un agente etiológico poco frecuente de meningitis en adultos y niños aunque, como comentaron otros cinco participantes, existen casos descritos en la literatura. En este sentido, hubo dos laboratorios que afirmaron que para caracterizar la cepa como causa de la infección sería indispensable aislarla a partir de una muestra de líquido cefalorraquídeo del niño. Otro centro informó que esta especie bacteriana puede ser causa de enfermedad invasiva y que puede actuar como causante de la meningitis en el niño, y un participante afirmó que se trataba de una historia clínica confusa.

Finalmente, resta comentar que algunos centros realizaron comentarios relacionados con *N. meningitidis* como causante del cuadro clínico, precisamente aquellos que confundieron la identificación de especie.

Tabla 11. Comentarios clínicos y terapéuticos realizados por los participantes.

Comentarios	Número	%^a
No existe relación con cuadro clínico de meningitis en el niño	8	6,1
Causa poco frecuente de meningitis en adultos y niños	5	3,8
Se han descrito casos de meningitis por <i>N. lactamica</i>	5	3,8
Descrita utilidad para desarrollo de inmunidad frente a <i>N. meningitidis</i>	3	2,3
No se aconseja estudio portadores faríngeos de meningococo	2	1,5
Importante aislar cepa del LCR del niño para caracterizarla como agente etiológico	2	1,5
Probable meningitis por <i>N. meningitidis</i>	2	1,5
Tratamiento elección: penicilina	2	1,5
Tratamiento elección: penicilina G, ampicilina o cefalosporinas de tercera generación	2	1,5
Vigilancia clínica de los contactos. Rifampicina posiblemente indicada como profilaxis	1	0,8
No son necesarias medidas en la cuidadora	1	0,8
Enfermedad de declaración obligatoria urgente	1	0,8
Hacer estudio de portadores/cepa transmitida por portadora	1	0,8
Historia clínica confusa	1	0,8
<i>N. lactamica</i> produce ocasionalmente enfermedad invasiva	1	0,8
No indicada quimioprofilaxis en la portadora	1	0,8
<i>N. lactamica</i> actúa como posible agente etiológico de la meningitis en el niño	1	0,8
Indicada descolonización de la portadora	1	0,8
Paciente portadora de <i>N. meningitidis</i>	1	0,8
Tratamiento elección: penicilina G o cefalosporinas de tercera generación	1	0,8
Cepa potencialmente patógena aunque procede de portador asintomático	1	0,8
Total comentarios clínico-terapéuticos	43	32,8

^aSobre las 132 respuestas con comentarios.