

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-2/07)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Rhodococcus equi*. La historia clínica que lo acompañaba correspondía una mujer joven, amazona de profesión, que sufrió una caída accidental durante un entrenamiento. Como consecuencia de dicha caída, padeció contusiones múltiples y una herida en la pierna derecha. A los dos días, el aspecto de la lesión empeoró, haciéndose patente una zona eritematosa, tumefacta, de bordes sobreelevados, con exudación purulenta. Cuando acudió a su médico de familia presentaba, además, malestar general y febrícula de 37,8° C. Se recogieron muestras del exudado de la lesión, y se procedió a su desbridamiento, iniciándose tratamiento antibiótico empírico. Tanto el exudado como los restos tisulares se enviaron al servicio de Microbiología, en donde se cultivaron en los medios adecuados. A las 48 horas de incubación creció en los medios de cultivo habituales la bacteria remitida a los participantes en este control.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y estudio **de sensibilidad** de la cepa remitida. Así mismo, podían hacerse en la hoja de respuesta los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que se estimasen oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a 277 laboratorios, de los que 241 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 87,0%. Todos los centros obtuvieron crecimiento a partir de la siembra del producto liofilizado, por lo que son analizables todas las hojas de respuesta. Como se puede observar en la tabla 1, la mayoría de los participantes identificaron correctamente la especie (85,1%) y el 10,8% sólo el género. Por parte del programa de control de calidad se consideró válida la identificación mínima de género *Rhodococcus*, por lo que el porcentaje de respuestas correctas fue del 95,8%. El resto de centros aportaron una amplia variedad de identificaciones discordantes alejadas de la respuesta válida y que se especifican en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Rhodococcus equi</i>	205	85,1
Género <i>Rhodococcus</i>	26	10,8
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	0,4
<i>Burkholderia mallei</i>	1	0,4
<i>Gemella haemolysans</i>	1	0,4
Género <i>Bacillus</i>	1	0,4
Género <i>Micrococcus</i>	1	0,4
Género <i>Pasteurella</i>	1	0,4
Género <i>Streptococcus</i>	1	0,4
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	0,4
<i>Staphylococcus hominis</i>	1	0,4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	0,4
Total	241	100,0

Por lo que respecta a los métodos de identificación bacteriana, una amplia mayoría de 181 participantes (75,1%) emplearon técnicas comerciales y, de ellos, 32 (13,3%) lo hicieron junto a métodos manuales. El porcentaje de participantes que emplearon métodos manuales como técnica única fue del 19,5%. Finalmente, cuatro de los centros realizaron secuenciación y el 4,1% no informó del método empleado. Los resultados se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	148	61,4
Manual	47	19,5
Manual + Comercial	32	13,3
Comercial + secuenciación	1	0,4
Manual + secuenciación	1	0,4
Secuenciación	2	0,8
No informa	10	4,1
Total	241	100,0

En la tabla 3 se especifican las marcas y sistemas comerciales utilizados para la identificación. Las galerías bioquímicas API fueron el equipo empleado de forma mayoritaria (86,6%). Tres centros no especificaron la marca comercial empleada. Los resultados de identificación erróneos se distribuyeron de forma aleatoria entre los diferentes

métodos comerciales; destacando que todos los centros que usaron las galerías API Coryne y BBL Crystal informaron correctamente el género o la especie.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	%
Galerías API		
API Coryne	143	79,9
API no especificado	9	11,4
API 20 Strep	2	1,1
API 20 NE	1	0,5
Vitek / Vitek 2	4	5,1
BBL Crystal	5	2,8
Wider	4	5,1
Phoenix	3	1,7
Microscan	3	1,7
Otros	2	1,1
No especifica el sistema utilizado	3	1,7
Total	179	100,0

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a todos los centros que realizaron una identificación mínima de género *Rhodococcus* (231). De éstos, 24 no realizaron estudio de sensibilidad, por lo que se analizan un total de 189 respuestas. El número de centros que realizó una técnica de difusión en disco-placa fue de 175 (92,6%), de los que 147 lo hicieron de forma única (77,8%), 16 participantes (8,5%) en combinación con E-test® y dos centros en combinación con una técnica de microdilución en caldo. Fueron 28 laboratorios los que realizaron E-test® (14,8%), sólo o en combinación con otro método. El 13,2% de los laboratorios determinó la CMI mediante una técnica de microdilución en caldo, empleándose dicho método como técnica única en el 11,1% de los casos. Fueron nueve los participantes que no especificaron el método empleado (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Disco-placa	147	77,8
CMI por microdilución	21	11,1
Disco-placa + E-test®	16	8,5
E-test®	10	5,3
CMI + Disco-placa	2	2,2
CMI + E-test®	2	2,2
No especificado	9	4,8
Total	189	100,0

Sobre un total de 25 respuestas, el equipo más utilizado para la realización del antibiograma mediante microdilución en caldo fueron los sistemas automatizados Wider y Microscan (32,0%, en ambos casos), seguidos de Sensititre (28,0%), Phoenix (4,0%) y Vitek 2 (4,0%). La distribución de resultados se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Wider	8	32,0
Microscan	8	32,0
Sensititre	7	28,0
Vitek 2	1	4,0
Phoenix	1	4,0
Total	25	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica, según el centro que actuó como laboratorio de referencia, fueron realizados mediante difusión en disco-placa y CMI, y se muestran en la tabla 6. 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. Dada la ausencia de criterios estándar para interpretar los resultados, éstos deben ser analizados con precaución. Para la interpretación de dichos resultados el laboratorio de referencia recurrió a diversos criterios: análisis de los valores de CMI obtenidos, analogía con otros grampositivos para los que sí existen normas estándar, interpretación de datos de la literatura, etc.

Tabla 6. Sensibilidad antibiótica de la cepa según el laboratorio de referencia.

Antibiótico	CMI	Interpretación
Ampicilina	–	R
Amoxicilina-clavulanato	> 8	R
Claritromicina	–	S
Cefalotina/cefazolina	–	R
Ciprofloxacino	–	S
Clindamicina	–	R
Eritromicina	0,5	S
Gentamicina	–	S
Imipenem	= 0,12	S
Penicilina	>8	R
Rifampicina	= 1	S
Cotrimoxazol	–	S
Vancomicina	= 0,25	S

S: sensible. R: resistente.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia un listado de los antibióticos que consideraran deberían ser incluidos en el estudio de sensibilidad de esta cepa (tabla 7), sirviendo así como una aproximación o guía general. Desde el Programa de Control de Calidad se considera que la adecuación de los antibióticos seleccionados por cada centro, puede considerarse como un elemento añadido de la calidad que ofrece. Como en otras ocasiones, estos profesionales basaron su selección en los siguientes criterios: a) tratarse de opciones terapéuticas de primera elección, b) constituir alternativas en ciertas situaciones clínicas, c) servir como criterio adicional para la identificación precisa de la especie bacteriana, marcador fenotípico, etc. y d) para conocer la epidemiología de la resistencia en un determinado ámbito geográfico.

Tabla 7. Antibiógrama ideal según tres profesionales.

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Claritromicina	Claritromicina	
Clindamicina		Clindamicina
	Ciprofloxacino	
Eritromicina	Eritromicina	Eritromicina
Gentamicina		
Imipenem	Imipenem	Imipenem
Penicilina	Penicilina	Penicilina
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol
Rifampicina		Rifampicina
Vancomicina	Vancomicina	Vancomicina

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que no realizan pruebas de sensibilidad por no existir criterios de interpretación, a otros que estudian hasta 19 diferentes. Los antibióticos que fueron informados por un mayor número de participantes se ajustan bastante al “patrón ideal” que se desprende de la opinión de los expertos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Amoxicilina-clavulanato	56	21 (37,5)	1 (1,8)	33 (58,9)	1 (1,8)
Ampicilina/amoxicilina	40	2 (5,0)	–	38 (95,0)	–
Cefotaxima	33	4 (12,1)	1 (3,0)	27 (81,8)	1 (3,0)
Ciprofloxacino	150	139 (92,7)	5 (3,3)	2 (1,3)	4 (2,7)
Claritromicina	31	30 (96,8)	–	–	1 (0,7)
Clindamicina	79	8 (10,1)	–	69 (87,3)	2 (2,5)
Cotrimoxazol	103	39 (37,9)	–	63 (61,2)	1 (1,0)
Eritromicina	184	175 (95,1)	3 (1,6)	2 (1,1)	4 (2,2)
Gentamicina	124	118 (95,2)	–	3 (2,4)	3 (2,4)
Imipenem	117	115 (98,3)	–	–	2 (1,7)
Penicilina	74	1 (1,4)	–	73 (98,6)	–
Rifampicina	144	139 (96,5)	–	1 (0,7)	4 (2,8)
Tetraciclinas	46	40 (87,0)	1 (2,2)	3 (6,5)	2 (4,3)
Vancomicina	192	185 (96,3)	–	–	7 (3,6)

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

En la tabla 8 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue superior a 30. De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia para la mayoría de los antibióticos ensayados, con la excepción del cotrimoxazol, en donde la mayoría (61,2%) lo interpreta resistente, discrepando de la interpretación sensible informada por el centro que actuó de referencia. La menor uniformidad de interpretaciones observada entre los participantes se detectó con la amoxicilina-clavulanato, cefotaxima y la clindamicina.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, se obtuvieron los siguientes datos: 223 laboratorios (92,5%) afirmaron no haberlo utilizado, 12 centros (5,0%) declararon haberlo requerido, cuatro de ellos (1,7%) parcialmente; fueron 6 participantes (2,5%) los que no aportaron información al respecto.

COMENTARIOS

De forma general, muchos participantes comentaron que se trataba de una especie para la que no existía un antibiograma estandarizado por el CLSI, apuntando algunos de ellos que era causante de una zoonosis. También fue considerable el número de participantes que realizaron recomendaciones de tratamiento, indicando que la terapia tenía que ser siempre en combinación de dos o más antibióticos durante un periodo largo de tiempo, aconsejando como pauta terapéutica la combinación de eritromicina con vancomicina y/o rifampicina. Algunos comentaron que era necesario realizar un desbridamiento quirúrgico de la herida y otros que sería necesario descartar la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).