

## CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-4/08)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Clostridium perfringens*. La historia clínica correspondía a una paciente de 75 años de edad, con antecedentes de hipertensión arterial y diabetes que, desde hacía meses, presentaba una lesión ulcerada crónica en la pierna izquierda, y que en los últimos días había ido empeorando. La paciente acudió al servicio de urgencias de su hospital por presentar fiebre de 37,8°C, taquicardia, dolor progresivo en la pierna izquierda, edema, eritema y necrosis alrededor de la lesión, con calor local. Se realizó el desbridamiento de la lesión y se remitieron muestras al servicio de Microbiología para estudio bacteriológico, produciéndose el crecimiento de la bacteria objeto de este control a las 48 h de incubación.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el 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. El objetivo principal de este control fue evidenciar la capacidad de los participantes para detectar e identificar *C. perfringens* en la muestra problema incubando las placas en atmósfera anaerobia, como sugería el caso clínico.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa fue enviada a los 281 centros participantes, de los que 232 remitieron hoja de respuesta (82,5%). La mayoría de los participantes identificaron correctamente el género y la especie (86,6%), mientras que 10 laboratorios (4,4%) informaron sólo el género y 5 (2,1%) informaron otras especies de *Clostridium* (tabla 1). Cinco participantes declararon no obtener crecimiento tras el subcultivo, presumiblemente por no incubar en atmósfera de anaerobiosis.

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

Identificación	Número	%
<i>Clostridium perfringens</i>	201	86,6
Género <i>Clostridium</i>	10	4,4
<i>Clostridium clostridioforme</i>	3	1,3
<i>Clostridium septicum</i>	1	0,4
<i>Clostridium tertium</i>	1	0,4
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	3	1,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	0,8
Otros <sup>a</sup>	6	2,6
No se obtiene crecimiento	5	2,2
Total	232	100,0

<sup>a</sup>*Acinetobacter baumannii*, *Actinomyces pyogenes*, *Alcaligenes faecalis*, bacilo anaerobio, bacilo gramvariable, género *Bacteroides*.

De los 227 centros que obtuvieron crecimiento, la mayoría de ellos (194, el 85,5%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa (tablas 2 y 3). Solamente 24 centros (10,5%) usaron técnicas manuales, complementadas, en un caso, con un estudio de secuenciación.

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

Método	Número	%
Comercial	191	84,2
Manual	20	8,8
Manual + comercial	3	1,3
Manual + secuenciación	1	0,4
No informa	12	5,3
Total	227	100,0

**Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Galerías API			
API 20A	68	35,1	98,5
API 20NE	3	1,5	0,0
API Coryne	1	0,5	0,0
Rapid ID 32A	53	27,3	98,1
Vitek/Vitek 2	38	19,6	84,2
Rapid ANA System II	11	5,7	100,0
BBL Crystal	7	3,6	100,0
Microscan	6	3,1	83,3
Wider	1	0,5	0,0
No especifica el sistema utilizado	6	3,1	100,0
Total	194	100,0	69,0

Los sistemas comerciales más empleados fueron las galerías API 20A (68 centros) y rapid ID 32A (53 centros), seguidos del Vitek/Vitek 2 (38 centros) y Rapid ANA System II (11 centros). El Programa de Control de Calidad aceptó como válida únicamente la identificación *C. perfringens*. La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 4.

**Tabla 4. Resultados de identificación de *Clostridium* con los sistemas mayoritarios.**

Sistema	Número usuarios	<i>C. perfringens</i>	Género <i>Clostridium</i>	<i>C. clostridioforme</i>	Otras especies
API 20A	68	67 (98,5)	1 (1,5)	0	0
Rapid ID 32A	53	52 (98,1)	0	1 (1,9)	0
Vitek/Vitek 2	38	33 (86,8)	2 (5,3)	1 (2,6)	2 (5,3)
Rapid ANA System II	11	11 (100,0)	0	0	0
BBL Crystal	7	7 (100,0)	0	0	0
Microscan	6	5 (83,3)	0	1 (16,7)	0

Los mejores resultados se obtuvieron con los sistemas comerciales API 20A, rapid ID 32A, rapid ANA System II y BBL Crystal. Así, 67 de 68 participantes que emplearon API 20A (98,5%) remitieron la identificación óptima; en el caso del rapid ID 32A, fueron 52 de 53 (98,1%) los que informaron *C. perfringens*. Los 11 participantes (100,0%) que realizaron el rapid ANA System II y los 7 participantes (100,0%) que hicieron el BBL Crystal identificaron correctamente la especie. El sistema Vitek se reveló insuficiente para alcanzar la identificación, pues sólo 32 de 38 participantes (84,2%) remitieron la respuesta óptima, si bien hay que tener en cuenta respecto al Vitek que 3 centros realizaron la identificación con una tarjeta diferente de la de anaerobios.

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

### GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 216 centros que realizaron una identificación mínima de género *Clostridium*. De ellos, 56 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 160 antibiogramas. Fueron 71 (44,3%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 58 (36,2%) lo hicieron de forma única. Se realizó E-test® en 61 laboratorios (38,2%), en 48 de los (30,0%) fue el único método empleado. El número de participantes que determinaron la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo o que realizaron el método de concentración crítica fue de 19 (11,9%) en cada caso. Cuatro participantes no especificaron el método empleado (tabla 5).

**Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Disco-placa	58	36,2
E-test®	48	30,0
CMI por microdilución	18	11,2
Concentración crítica	18	11,2
Disco-placa + E-test®	12	7,5
CMI + disco-placa	1	0,7
E-test® + concentración crítica	1	0,7
No especificado	4	2,5
Total	160	100,0

Sobre un total de 38 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados ATB ANA (50,0%) y Sensititre (21,1%), seguidos del Microscan (13,1%) y Vitek/Vitek 2 (10,6%). Los datos se resumen en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.**

Marca	Número	%
ATB ANA	19	50,0
Sensititre	8	21,1
Microscan	5	13,1
Vitek/Vitek 2	4	10,6
Preparación propia	1	2,6
No específica	1	2,6
Total	38	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia (tabla 6) fueron obtenidos por E-test® y se muestran en la tabla 7. 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. El laboratorio de referencia usó los criterios del CLSI para la interpretación de los resultados.

**Tabla 7. Sensibilidad antibiótica de la cepa.**

Antibiótico	Interpretación <sup>a</sup>
Amoxicilina-clavulanato	S
Clindamicina	I
Metronidazol	S
Penicilina	S
Vancomicina	S

<sup>a</sup>S: sensible; I: intermedio.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia una lista de los antibióticos que consideraran que debían ser incluidos en el estudio de sensibilidad de esta bacteria, 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 criterio 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. Las distintas respuestas de los expertos se resumen en la tabla 8.

**Tabla 8. Antibiograma ideal según tres profesionales.**

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Penicilina	Penicilina	Penicilina
Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato
Cefoxitina	Piperacilina-tazobactam	Piperacilina-tazobactam
	Imipenema	Cefoxitina
		Imipenema
		Ertapenema
Clindamicina	Clindamicina	Clindamicina
Eritromicina		
Metronidazol	Metronidazol	Metronidazol
Vancomicina	Vancomicina	

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 12 diferentes. Los antibióticos que fueron informados por un mayor número de participantes se ajustan bastante a las necesidades terapéuticas y al "patrón ideal" que se desprende de la opinión de dos o más de los expertos: penicilina, amoxicilina-clavulanato, piperacilina-tazobactam, cefoxitina, clindamicina, imipenema, clindamicina, metronidazol y vancomicina.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

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 35.

**Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Número	Interpretación <sup>a</sup>		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Amoxicilina-clavulanato	114	114 (100,0)	–	–
Cefoxitina	88	87 (98,9)	–	1 (1,1)
Clindamicina	150	54 (36,0)	25 (16,7)	71 (47,3)
Imipenema	106	106 (100,0)	–	–
Metronidazol	138	130 (94,2)	2 (1,5)	6 (4,3)
Penicilina	143	139 (97,2)	1 (0,7)	3 (2,1)
Piperacilina-tazobactam	54	54 (100,0)	–	–
Vancomicina	12	12 (100,0)	–	–

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia para todos los antibióticos, a excepción de la clindamicina, en la que se observó una importante discrepancia entre los diferentes centros. Según el laboratorio de referencia, la cepa presentaba una CMI de

3-4 µg/ml para este antibiótico (“Intermedio”), realizada por E-test®, por lo que las discrepancias observadas en los participantes deben ser consideradas, en todos los casos, como “errores menores” en la terminología habitual. No obstante, sería recomendable que aquellos centros que aportaron datos de sensibilidad cuantitativa para la clindamicina, y cuyos valores de CMI estuvieran alejados del valor de referencia, revisaran sus procedimientos.

#### **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: 218 laboratorios (94,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 3 centros (1,3%) declararon haberlo requerido y 5 centros (2,1%) lo utilizaron parcialmente. Hubo 6 participantes (2,6%) que no aportaron información al respecto.

#### **COMENTARIOS**

Los comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas, principalmente el desbridamiento junto con penicilina a altas dosis.

Algunos participantes (11 centros) señalaron explícitamente que no realizaban antibiograma de anaerobios, en muchos casos ni siquiera en su centro de referencia. Otros centros (5) señalaron que la cepa era β-lactamasa negativa, que el aislado no creció en aerobiosis (5), que era resistente a la clindamicina (3) y que no existían criterios del CLSI para la interpretación del antibiograma (2).