

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-2/08)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Salmonella enterica* serotipo Blockley (grupo C). La historia clínica correspondía a una paciente de 46 años de edad que presentaba, desde hacía 12 h, un cuadro de diarrea abundante y fiebre de 38°C. Acudió a su médico de Atención Primaria quien, tras la exploración y con la sospecha de gastroenteritis invasiva, decidió remitir muestras de heces para coprocultivo al laboratorio de Microbiología. A los tres días del envío de la muestra se recibió el resultado de microbiología que identificaba el agente etiológico, y que constituyó el objeto de este control.

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 el patrón de sensibilidad de la cepa, ya que se trataba de una *S. enterica* serotipo Blockley productora de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) y resistente al ácido nalidíxico, aislada en un coprocultivo de procedencia comunitaria.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 281 centros participantes, de los que remitieron hoja de respuesta 252, lo que supone un porcentaje de participación del 89,7%. La mayoría de los participantes identificaron correctamente el género y la especie (72,6%), mientras que 68 laboratorios (27,0%) informaron sólo el género. La mayor discrepancia correspondió a un centro que identificó la cepa control como *Yersinia enterocolitica* (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Salmonella enterica</i> grupo C	116	46,0
Género <i>Salmonella</i>	68	27,0
<i>Salmonella enterica</i>	64	25,4
<i>Salmonella enterica</i> grupo B	3	1,2
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	0,4
Total	252	100,0

La gran mayoría de los centros (228, el 90,4%) empleó técnicas comerciales para identificar la cepa (tabla 2). De éstos, 113 (44,8%) lo hicieron junto a aglutinación, 6 centros (2,4%) usaron además métodos manuales, y 12 centros (4,7%) usaron las tres técnicas. Uno de los centros realizó, además, un estudio de secuenciación (0,4%).

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial + aglutinación	113	44,8
Comercial	97	38,5
Manual + aglutinación	15	6,0
Manual + comercial + aglutinación	12	4,7
Manual + comercial	6	2,4
Manual	5	2,0
Agglutinación	2	0,8
Manual + aglutinación + secuenciación	1	0,4
No informa	1	0,4
Total	252	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron Microscan (83 centros), Vitek 2 (68 centros), Wider (39 centros) y las galerías API (28 centros). El participante con la identificación de *Y. enterocolitica* no aportó información de la marca empleada. Todos los equipos de los que se informó la marca comercial identificaron perfectamente la cepa control como perteneciente al género *Salmonella*.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Microscan	83	36,4	100,0
Vitek 2	68	29,8	100,0
Wider	39	17,1	100,0
Galerías API			
API 20E	23	10,1	100,0
API 10S	5	2,2	100,0
Phoenix	4	1,75	100,0
Otros	4	1,75	100,0
No especifica el sistema utilizado	2	0,9	50,0
Total	228	100,0	99,5

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 251 centros que realizaron una identificación mínima de género *Salmonella*. Todos ellos realizaron el estudio de sensibilidad. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 201 (80,0%), empleándose como método único en el 70,5% de los casos. Fueron 63 (25,0%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 44 (17,5%) lo hicieron de forma única. Se realizó E-test® en 9 laboratorios (3,6%), siempre en combinación con otros métodos. Cinco participantes no especificaron el método empleado (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
CMI por microdilución	177	70,5
Disco-placa	44	17,5
CMI + disco-placa	16	6,4
CMI + E-test®	6	2,4
CMI + disco-placa + E-test®	2	0,8
Disco-placa + E-test®	1	0,4
No especificado	5	2,0
Total	251	100,0

Sobre un total de 201 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (41,8%) y Vitek/Vitek 2 (33,8%), seguidos del Wider (19,4%). Los datos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Microscan	84	41,8
Vitek/Vitek 2	68	33,8
Wider	39	19,4
Sensititre	4	2,0
Phoenix	4	2,0
Otros	2	1,0
Total	201	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia (tabla 6) fueron obtenidos por difusión en disco-placa, complementados con las CMI por microdilución (Microscan) y se muestran en la tabla 6. 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 correspondientes a la familia *Enterobacteriaceae* para la interpretación de los resultados y realizó la detección de BLEE mediante la prueba de la doble difusión con discos de aztreonam, cefotaxima y ceftazidima. La presencia de BLEE fue confirmada mediante CMI diferencial de la ceftazidima, sola y combinada con ácido clavulánico.

Tabla 6. Sensibilidad antibiótica de la cepa.

Antibiótico	Interpretación ^a
Ampicilina/amoxicilina	R
Amoxicilina-clavulanato	S
Piperacilina-tazobactam	S
Cefuroxima	R
Cefoxitina	S
Cefotaxima/ceftriaxona	R
Ceftazidima	R
Aztreonam	R
Imipenem	S
Ertapenem	S
Ácido nalidíxico	R
Ciprofloxacino	I
Levofloxacino	I
Cotrimoxazol	S
Doxiciclina	S

^aR: resistente; S: sensible; I: intermedio.

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 bacteria (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 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.

Tabla 7. Antibiograma ideal según tres profesionales.

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina
Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato
Cefotaxima/ceftriaxona	Cefotaxima/ceftriaxona	Cefotaxima/ceftriaxona
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol
Ácido nalidíxico	Ácido nalidíxico	Ácido nalidíxico
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Ciprofloxacino
Doxiciclina		Imipenem

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 18 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.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla 8 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. En total, se han recibido resultados correspondientes a 44 antibióticos diferentes.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Ampicilina/amoxicilina	224	4 (1,8)	0	219 (97,8)	1 (0,4)
Amoxicilina-clavulanato	182	148 (81,3)	5 (2,8)	25 (13,7)	4 (2,2)
Piperacilina-tazobactam	35	31 (88,6)	0	2 (5,7)	2 (5,7)
Cotrimoxazol	207	206 (99,5)	0	0	1 (0,5)
Cefuroxima	45	0	1 (2,2)	42 (93,4)	2 (4,4)
Cefoxitina	37	24 (64,9)	0	8 (21,6)	5 (13,5)
Cefotaxima	167	6 (3,6)	17 (10,2)	142 (85,0)	2 (1,2)
Ceftazidima	64	1 (1,6)	1 (1,6)	59 (92,1)	3 (4,7)
Cefepima	53	19 (35,9)	0	32 (60,3)	2 (3,8)
Aztreonam	37	2 (5,4)	0	35 (94,6)	0
Imipenem	106	104 (98,1)	0	0	2 (1,9)
Ácido nalidíxico	57	0	0	57 (100,0)	0
Ciprofloxacino	238	210 (88,2)	19 (8,0)	8 (3,4)	1 (0,4)
Gentamicina	54	37 (68,5)	0	16 (29,6)	1 (1,9)

^aLos 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 los antibióticos ampicilina/amoxicilina, cotrimoxazol, imipenem, cefuroxima, ceftazidima, y al ácido nalidíxico. Sin embargo, conviene resaltar algunas discrepancias, sobre todo las que afectan a la interpretación del fenotipo de resistencia. Así, el 3,6% de los laboratorios consideró que la cepa era sensible a la cefotaxima, y el 10,2% que mostraba una sensibilidad intermedia a este antibiótico, aunque al ser una bacteria portadora de BLEE debiera haber llevado a la interpretación de "Resistente", con independencia de la CMI o del diámetro del halo obtenidos. También hay que destacar el 35,9% de participantes que catalogó la cepa como sensible a la cefepima, lo que tampoco es correcto desde el punto de vista de su utilización terapéutica. Además, cerca del 15% de las respuestas indicaron que la cepa no era sensible a la combinación amoxicilina-clavulanato, probablemente por el papel controvertido de este antimicrobiano en el tratamiento de las infecciones por enterobacterias portadoras de BLEE.

Todos los participantes que han informado el ácido nalidíxico coinciden con la interpretación de "Resistente". Sin embargo, a pesar de ello, un 79% de éstos (y un 88% del total de centros) informan el ciprofloxacino como "Sensible", aunque según las recomendaciones de los expertos consultados debería cambiarse esta interpretación a "Intermedio". En ocasiones, algunos de los que informan "Sensible" comentan la posibilidad de que se produzca un fallo terapéutico con las fluoroquinolonas. Lógicamente, los participantes que utilizan paneles de CMI que no incluyen el

ácido nalidíxico, informan, erróneamente, que la cepa es sensible al ciprofloxacino y a otras fluoroquinolonas, sin matizaciones.

DETECCIÓN DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA

Como ya se ha indicado, el objetivo principal de este control fue comprobar si los participantes eran capaces de detectar que la cepa, aislada en un contexto de una gastroenteritis adquirida en la comunidad, era productora de BLEE, y evaluar la interpretación del fenotipo de resistencia resultante (resistencia a penicilina, cefalosporinas y aztreonam, sensibilidad a las combinaciones con inhibidores de β -lactamasas y a las carbapenemas); además de detectar la resistencia al ácido nalidíxico y sus consecuencias sobre la sensibilidad a otras quinolonas. Los resultados pueden ser considerados como satisfactorios, aunque inferiores al control de calidad realizado en el año 2003 a partir de una cepa de *Escherichia coli* productora de BLEE aislada en la comunidad. En dicho control, más del 77% de los participantes indicaron de forma explícita la producción de BLEE, mientras que en este control el porcentaje disminuye al 69%. Los resultados se resumen en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados de la detección de la producción de BLEE y resistencia al ácido nalidíxico.

Característica especial	Número	%
Cepa productora de BLEE y resistente al ácido nalidíxico	73	29,0
Cepa productora de BLEE, sin resultados ni comentarios acerca del ácido nalidíxico	101	40,0
Cepa productora de BLEE (implícito en el antibiograma), sin resultados ni comentarios acerca del ácido nalidíxico	6	2,4
Cepa productora de BLEE (implícito en el antibiograma), y resistente al ácido nalidíxico	1	0,4
Resistente al ácido nalidíxico	10	4,0
Ambas características no detectadas	61	24,2
Total	252	100,0

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: 227 laboratorios (90,1%) afirmaron no haberlo utilizado, 5 centros (2,0%) declararon haberlo requerido y 9 centros (3,6%) lo utilizaron parcialmente. Hubo 11 respuestas (4,3%) que no aportaron información al respecto.

COMENTARIOS

Como se ha señalado anteriormente, muchos participantes (174 centros) comentaron que se trataba de una bacteria productora de BLEE. Muchos de ellos, además, añadieron que era resistente al ácido nalidíxico. Otros comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas, principalmente el desaconsejar la utilización de quinolonas para la paciente, por el riesgo a desarrollar resistencia plena a estos antibióticos dado que la cepa era resistente al ácido nalidíxico. Otros centros recomendaron únicamente el tratamiento sintomático o, cuando sugerían algún antibiótico (cotrimoxazol, imipenem, ciprofloxacino), lo hacían en función de la situación y evolución clínica de la paciente. Algunos centros consignaron en su respuestas el serotipo de la cepa, mayoritariamente *Salmonella enterica* serotipo Blockley, si bien también informaron de otros serotipos.