

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-2/10)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* del grupo A de Lancefield). La historia clínica correspondía a una niña de 4 años de edad, sin antecedentes clínicos de interés, que fue llevada a su pediatra por haber presentado un cuadro de prurito y sensación de quemazón en la zona perianal, acompañado de intenso dolor a la defecación de varios días de evolución. A la exploración, la paciente presentaba buen estado general, y en la zona perianal se observó una lesión eritematosa, brillante, de bordes bien definidos, y muy dolorosa a la palpación con pequeñas fisuras y escaso exudado blanquecino. La madre relataba la presencia de finas hebras de sangre en las heces. Se constató además un cuadro de vulvovaginitis. Se realizó una toma del exudado de la lesión y se remitió al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico, aislándose a los dos días la cepa que es objeto del 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 un *S. pyogenes* resistente a la eritromicina y sensible a la clindamicina (fenotipo M), aislado en un exudado de herida de procedencia ambulatoria.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 260 centros participantes, de los que 236 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 90,8%, moderadamente inferior al del último control (94,2%). La mayoría de los participantes identificaron correctamente el género y la especie (84,8%) y 25 centros informaron *Streptococcus* del grupo A (10,6%). Por parte del control de calidad SEIMC se consideraron respuestas válidas tanto la identificación correcta del género y de la especie microbiana (*S. pyogenes*) como la identificación de *Streptococcus* grupo A, por lo que el porcentaje de acierto global fue del 95,4%. Dos laboratorios informaron estreptococo β -hemolítico sin especificar el grupo y otros dos señalaron que pertenecía al grupo G. La totalidad de las identificaciones informadas se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	200	84,8
<i>Streptococcus</i> grupo A	25	10,6
Estreptococo β -hemolítico	2	0,8
<i>Streptococcus</i> grupo G	2	0,8
Otros ^a	7	3,0
Total	236	100,0

^aUn único aislado de: *Aerococcus viridans*, *Gemella haemolysans*, género *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus* y *Streptococcus milleri*.

En este control, la mayoría de los participantes (170, el 72,0%) realizaron una prueba de aglutinación de látex frente a los antígenos de grupo de Lancefield, de ellos 71 (30,1%) junto a un sistema comercial, 38 (16,1%) junto a un método manual y 23 (9,8%) junto con métodos manuales y comerciales. Más de la mitad de los centros (147, el 62,3%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, en muchos casos combinadas con la aglutinación. Las pruebas manuales (principalmente la sensibilidad a la bacitracina) fueron informadas por 83 laboratorios (el 35,2%), generalmente utilizadas en combinación con la aglutinación (tabla 2). Como ya sucedía en los tres últimos controles, ninguno de los centros realizó un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa, posiblemente por la facilidad para identificar la cepa con las técnicas habituales disponibles en los laboratorios.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial + Aglutinación	71	30,1
Comercial	42	17,8
Aglutinación	38	16,1
Manual + Aglutinación	38	16,1
Manual + Comercial + Aglutinación	23	9,8
Manual + Comercial	11	4,7
Manual	10	4,2
Manual + Inmunocromatografía	1	0,4
No informa	2	0,8
Total	236	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron las galerías bioquímicas API (48 centros, agrupando el API 20 Strep y el rapid ID 32 Strep), seguidas de los sistemas Microscan (38 centros), Vitek/Vitek 2 (34 centros) y Wider (17 centros). Los mejores resultados se obtuvieron con los sistemas Vitek/Vitek 2, Phoenix y BBL Crystal (100% de aciertos, si bien los dos últimos fueron usados por muy pocos centros,

por lo que debe interpretarse con cautela); seguidos del Microscan (94,7%) y Wider (94,1%). Como ya se ha comentado anteriormente, hay que tener en cuenta que en muchas de las ocasiones se emplearon junto con pruebas adicionales como la aglutinación para el grupo A de Lancefield y la sensibilidad a la bacitracina.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial ^a	Número	% uso	% acierto
Microscan	38	25,8	94,7
Vitek / Vitek 2	34	23,1	100,0
Galerías API			
API 20 Strep	26	17,7	92,3
API no especificado	15	10,2	100,0
Rapid ID 32 Strep	7	4,8	85,7
Wider	17	11,6	94,1
Phoenix	4	2,7	100,0
Sensititre	2	1,4	50,0
BBL Crystal	1	0,7	100,0
No especifica el sistema utilizado	3	2,0	100,0
Total	147	100,0	95,2

^aEmpleados solos ó combinados con otras pruebas.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 225 centros que realizaron la identificación de *S. pyogenes* / *Streptococcus* grupo A. De ellos, solamente siete no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 218 estudios de sensibilidad. En este control, la mayoría de los centros (160, el 73,4%) realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 111 (50,9%) lo hicieron de forma exclusiva. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 79 (36,2%), empleándose como método único en el 23,0% de los casos. Fueron 31 (14,2%) los centros que utilizaron tiras de E-test®, siete de ellos (3,2%) como única técnica (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Disco-placa	111	50,9
CMI por microdilución	50	23,0
CMI + disco-placa	26	11,9
Disco-placa + E-test®	21	9,6
E-test®	7	3,2
CMI + disco-placa + E-test®	2	0,9
CMI + E-test®	1	0,5
Total	218	100,0

Sobre un total de 79 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (39,2%) y Wider (30,4%), seguidos del Sensititre (8,9%), Vitek/Vitek 2 (7,6%), y Phoenix (5,1%). Los datos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Microscan	31	39,2
Wider	24	30,4
Sensititre	7	8,9
Vitek/Vitek2	6	7,6
Phoenix	4	5,1
Preparación propia	2	2,5
No especifica	5	6,3
Total	79	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia fueron obtenidos mediante difusión en disco-placa y microdilución (Microscan), y se muestran en la tabla 6. Igualmente se realizó la prueba del doble disco eritromicina-clindamicina (*D-test*), con resultado negativo. 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 *Streptococcus* para la interpretación de los resultados.

Tabla 6. Interpretación cualitativa de la sensibilidad antibiótica de la cepa.

Antibiótico	Interpretación ^a
Penicilina	S
Ampicilina/amoxicilina	S
Cefotaxima	S
Eritromicina	R
Clindamicina	S
Vancomicina	S
Levofloxacino	S

^aS: sensible; R: resistente.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia un listado de los antibióticos que a su criterio deberían ser incluidos en el estudio de sensibilidad de esta bacteria (tabla 7), sirviendo éstos 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 al caso clínico concreto es un criterio añadido de verdadera calidad en Microbiología Clínica. 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
Penicilina	Penicilina	Penicilina
Eritromicina	Eritromicina	Eritromicina
Clindamicina	Clindamicina	Clindamicina
Ampicilina/amoxicilina	Cefotaxima	
Vancomicina	Vancomicina	Levofloxacino Vancomicina

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 19 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 30. En total, se han recibido resultados correspondientes a 44 antibióticos diferentes.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia (penicilina, eritromicina, clindamicina, vancomicina). En cuanto a los resultados discrepantes, llama la atención el centro que, a pesar de identificar adecuadamente la cepa (*S. pyogenes*), informó la penicilina como resistente. Desde el programa de Control de Calidad se ruega a los participantes que revisen los datos introducidos en el formulario de respuesta antes de enviarlo, de este modo se minimizarán los posibles errores de transcripción producidos en la fase postanalítica, aunque en el caso del participante comentado se desconoce si el error se produjo en esta fase o en otros momentos del proceso.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Penicilina	191	190 (99,5)	0	1 (0,5)
Ampicilina/amoxicilina	86	86(100,0)	0	0
Cefotaxima	54	54 (100,0)	0	0
Eritromicina	205	18 (8,8)	3 (1,5)	184 (89,7)
Clindamicina	194	186 (95,9)	2 (1,0)	6 (3,1)
Vancomicina	105	105 (100,0)	0	0
Levofloxacino	59	58 (98,3)	1 (1,7)	0
Tetraciclina	32	32 (100,0)	0	0
Linezolid	30	30 (100,0)	0	0

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

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 (96,2%) afirmaron no haberlo utilizado, 5 centros (2,1%) declararon haberlo requerido y 3 centros (1,3%) lo utilizaron parcialmente. Hubo un solo participante (0,4%) que no aportó información al respecto.

DETECCIÓN DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS

Como ya se ha indicado, el objetivo principal de este control fue evidenciar la capacidad de los participantes para detectar que la cepa era resistente a la eritromicina y sensible a la clindamicina (fenotipo M). Los resultados se detallan en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados de la detección del fenotipo de resistencia a macrólidos/lincosamidas.

Característica especial	Número	%
Cepa con fenotipo M (comentario explícito)	67	28,4
Cepa resistente a eritromicina, sensible a clindamicina, sin inducción (comentario explícito)	10	4,2
Cepa resistente a eritromicina por bombas de expulsión/eflujo (comentario explícito)	6	2,5
Cepa con fenotipo MLS _B inducible (comentario explícito)	3	1,3
Centros que informaron correctamente el fenotipo de resistencia, pero que no realizaron comentarios explícitos acerca de la resistencia antibiótica	87	36,9
No informaron la resistencia a la eritromicina	22	9,3
Cepa sensible a la eritromicina	20	8,5
Cepa resistente a la eritromicina, pero no informaron la sensibilidad a clindamicina	16	6,8
Cepa con sensibilidad intermedia a la eritromicina	3	1,3
Cepa resistente a la eritromicina, con sensibilidad intermedia a la clindamicina	2	0,8
Total	236	100,0

En resumen, 83 centros (35,2%) informaron correctamente de forma explícita que la cepa poseía el fenotipo de resistencia M, o que el mecanismo de resistencia a la eritromicina era debido a bombas de expulsión activas, o que dicha cepa era resistente a la eritromicina, sensible a la clindamicina, sin haber inducción entre los dos antibióticos. Otros 87 centros (36,9%) informaron correctamente el fenotipo de resistencia sin realizar comentarios explícitos. Por contra, solamente 3 centros (1,3%) informaron de forma errónea que la cepa tenía el fenotipo MLS_B inducible.

COMENTARIOS

El comentario mayoritario ha sido, como ya se ha señalado anteriormente, que la cepa presentaba un fenotipo M de resistencia (resistente a la eritromicina y sensible a la clindamicina sin inducción con la prueba del doble disco, 67 centros); que dicha cepa no presentaba un halo inducción entre estos dos antibióticos (10 centros) ó que el mecanismo de resistencia a la eritromicina era por bombas de expulsión activa (7 centros). En contraposición, tres laboratorios señalaron que sí había un halo de inducción entre estos dos antibióticos. Por último, otros comentaron las recomendaciones terapéuticas (13), principalmente penicilina ó amoxicilina oral.