

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-1/10)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Escherichia coli* serotipo O157:H7 productor de verotoxina. La historia clínica correspondía a una niña de 12 años de edad, que fue llevada al Servicio de Urgencias de Pediatría por presentar, desde hacía dos días, un cuadro de diarrea, acompañado de fuerte dolor abdominal a la deposición. El cuadro diarreico había empeorado en las últimas horas y se observaba sangre en heces. A la exploración, la paciente presentaba signos de deshidratación, y en los análisis aparecía leucocitosis con neutrofilia. La madre no recordaba ningún antecedente de interés, y tan sólo comentaba que la niña, 48 h antes de empezar la diarrea, había acudido a celebrar un cumpleaños con sus amigas en una conocida hamburguesería. Se tomaron muestras de heces, que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio de virus y cultivo bacteriológico. El examen en fresco de las mismas reveló la presencia de abundantes leucocitos y hematíes. A las 24 horas de incubación creció la bacteria que es 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 *E. coli* enterohemorrágico (serotipo O157:H7), y diferenciarlo de los aislados de *E. coli* que forman parte de la flora fecal normal, aislada en un coprocultivo de procedencia ambulatoria.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 260 centros participantes, de los que remitieron hoja de respuesta 245, lo que supone un porcentaje de participación del 94,2%, similar al de los últimos controles. Todos los participantes identificaron correctamente el género y la especie, y de ellos un 94,3% informó correctamente el serotipo de la cepa control o, al menos, indicó en sus observaciones la probabilidad de que se tratase de dicho serotipo (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	231	94,3
<i>Escherichia coli</i>	10	4,1
<i>Escherichia coli</i> enteropatógeno	3	1,2
<i>Escherichia coli</i> enteroinvasivo	1	0,4
Total	245	100,0

La gran mayoría de los centros (229, el 93,5%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa (tabla 2). Casi la mitad de los participantes (120, el 49,0%) realizaron una prueba de aglutinación frente al antígeno O157:H7, de ellos 113 (46,1%) junto a un sistema comercial. En este control, las pruebas manuales solamente fueron informadas por 34 laboratorios (el 13,9%), la mayoría de ellas utilizadas en combinación con otro método. Como ya sucedía en los dos últimos controles, ninguno de los centros realizó un estudio de secuenciación para la identificación, posiblemente debido a la escasa dificultad para identificar la cepa con las técnicas habituales de los laboratorios; sin bien, un participante informó este procedimiento para la detección de genes productores de toxinas.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	94	38,3
Comercial + Aglutinación	94	38,3
Manual + Comercial + Aglutinación	14	5,7
Manual + Comercial	13	5,3
Comercial + Inmunocromatografía	6	2,4
Aglutinación	3	1,2
Comercial + Aglutinación + PCR	3	1,2
Manual + Aglutinación	3	1,2
Manual	2	0,8
Inmunocromatografía	2	0,8
Comercial + Aglutinación + Inmunocromatografía	2	0,8
Comercial + PCR	2	0,8
Comercial + Secuenciación	1	0,4
Manual + PCR	1	0,4
Manual + Aglutinación + PCR	1	0,4
PCR	1	0,4
No informa	3	1,6
Total	245	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron el Vitek/Vitek 2 (84 centros) y Microscan (76 centros), seguidos del Wider (30 centros) y las galerías API (29 centros). Todos ellos

identificaron correctamente el género y la especie, y mediante muchos de ellos se informó adecuadamente el serotipo O157:H7, aunque hay que tener en cuenta que en muchas de las ocasiones se emplearon junto con pruebas adicionales para detección de serotipo, como la aglutinación o la inmunocromatografía.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial ^a	Número	% uso	% acierto ^b
Vitek / Vitek 2	84	36,7	97,6
Microscan	76	33,2	96,1
Wider	30	13,1	86,7
Galerías API			
API 20 E	23	10,1	91,3
API 10S	4	1,7	75,0
ID 32 E	2	0,9	50,0
Phoenix	2	0,9	100,0
RapID One System	2	0,9	100,0
Sensititre	2	0,9	100,0
BBL Crystal	1	0,4	100,0
No especifica el sistema utilizado	3	1,3	100,0
Total	229	100,0	94,3

^aEmpleados solos ó combinados con otras pruebas.

^bParticipantes que informaron correctamente *E. coli* O157:H7.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

De los 245 participantes que informaron *E. coli*, 38 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 207 antibiogramas. El motivo principal por el que no realizaron estudio de sensibilidad (así lo indicaron la mayoría de ellos en sus comentarios) es que no esta recomendado el tratamiento antibiótico en este tipo de infecciones, ya que puede desencadenarse un síndrome urémico hemolítico.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 168 (81,2%), empleándose como método único en el 74,8% de los casos. Fueron 48 (23,2%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 35 (9,8%) lo hicieron de forma exclusiva. Solamente 5 laboratorios (2,4%) utilizaron tiras de E-test®, dos de ellos (1,0%) como única técnica. Por último, un participante no especificó el método empleado (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
CMI por microdilución	155	74,8
Disco-placa	35	16,9
CMI + disco-placa	11	5,3
E-test®	2	1,0
CMI + E-test®	1	0,5
CMI + disco-placa + E-test®	1	0,5
Disco-placa + E-test®	1	0,5
No especificado	1	0,5
Total	207	100,0

Sobre un total de 168 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (44,6%), seguidos del Vitek/Vitek 2 (28,6%) y Wider (20,2%). Los datos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Microscan	75	44,6
Vitek/Vitek2	48	28,6
Wider	34	20,2
Sensititre	4	2,4
Phoenix	3	1,8
Pasco	2	1,2
Preparación propia	1	0,6
No especifica	1	0,6
Total	168	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. 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 del serotipo O157:H7 mediante una prueba de aglutinación con látex y detección de verotoxina por PCR.

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

Antibiótico	Interpretación ^a	Antibiótico	Interpretación ^a
Ampicilina/amoxicilina	S	Imipenem	S
Amoxicilina-clavulanato	S	Piperacilina-tazobactam	S
Cefuroxima	S	Gentamicina	S
Cefotaxima/ceftriaxona	S	Ciprofloxacino	S
Ceftazidima	S	Cotrimoxazol	S
Cefepima	S	Fosfomicina	S

^aS: sensible.

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. Antibiógrama ideal según tres profesionales.

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina
Cefotaxima	Cefotaxima	Amoxicilina-clavulanato
Gentamicina	Azitromicina	Cefuroxima
Fosfomicina	Fosfomicina	Fosfomicina
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Ciprofloxacino
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol

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 46 antibióticos diferentes.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia (ampicilina/amoxicilina, amoxicilina-clavulanato, cefalotina/cefazolina, cefuroxima, cefotaxima, imipenem, gentamicina, tobramicina, amikacina, ciprofloxacino, cotrimoxazol y fosfomicina).

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Ampicilina/amoxicilina	174	168 (96,6)	1 (0,6)	3 (1,7)	2 (1,1)
Amoxicilina-clavulanato	141	140 (99,3)	0	1 (0,7)	0
Piperacilina-tazobactam	30	30 (100,0)	0	0	0
Cotrimoxazol	151	150 (99,3)	0	0	1 (0,7)
Cefalotina/cefazolina	47	47 (100,0)	0	0	0
Cefuroxima	74	71 (95,9)	1 (1,4)	2 (2,7)	0
Cefoxitina	32	32 (100,0)	0	0	0
Cefotaxima	115	113 (98,2)	1 (0,9)	1 (0,9)	0
Cefepima	32	32 (100,0)	0	0	0
Fosfomicina	43	43 (100,0)	0	0	0
Imipenem	53	53 (100,0)	0	0	0
Ciprofloxacino	176	175 (99,4)	0	0	1 (0,6)
Gentamicina	108	107 (99,1)	0	1 (0,9)	0
Tobramicina	43	43 (100,0)	0	0	0
Amikacina	49	49 (100,0)	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: 207 laboratorios (84,5%) afirmaron no haberlo utilizado, 17 centros (7,0%) declararon haberlo requerido y 21 centros (8,5%) lo utilizaron parcialmente.

En comparación a otros controles anteriores, en este control se ha producido un aumento importante de la utilización de un laboratorio externo debido a que bastantes centros carecen de una prueba confirmatoria del serotipo O157:H7 (como aglutinación de látex, inmunocromatografía ó PCR).

COMENTARIOS

El comentario mayoritario ha sido, como ya se ha mencionado antes, que no estaba recomendado el tratamiento antibiótico en este tipo de infecciones porque podía desencadenarse un síndrome urémico hemolítico; aunque en caso de necesidad, sí se podría administrar la fosfomicina o la azitromicina (47 centros).

Otros comentarios fueron que la cepa era sorbitol negativa (27 participantes), que era productora de verotoxina (8 centros) ó que se debería enviar a un laboratorio de referencia para la búsqueda de verotoxina (otros 7 participantes).

Algunos centros (20) especificaron las marcas comerciales de los reactivos que emplearon para la detección del serotipo, mientras que otros (10) indicaron que en su laboratorio no disponían de dicho reactivo.