

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-3/12)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Bacillus licheniformis*. La historia clínica correspondía a una mujer de 29 años de edad, ex-ADVP, con serología positiva para VIH-1, que era ingresada por presentar una grave infección del tracto respiratorio inferior, por lo que se instauró antibioticoterapia por vía endovenosa. Tras la mejoría clínica inicial presentó, a los 10 días del tratamiento, varios picos febriles. Se extrajeron dos hemocultivos seriados y se inició tratamiento con vancomicina. También se decidió la retirada del catéter central, cuya punta fue remitida al servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico. A las 48 horas de incubación creció, a partir de los hemocultivos y de la siembra del catéter, el microorganismo 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 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 *B. licheniformis* en la muestra problema.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 251 centros participantes, de los que 227 remitieron hoja de respuesta. Un único centro, tras la siembra de la muestra, no obtuvo crecimiento (0,4%), por lo que hubo un total de 226 respuestas analizables. Así, el porcentaje real de participación fue del 90,0%, superior al del último control (86,2%). El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida la identificación de *B. licheniformis*, y como respuestas aceptables, la de cualquier especie perteneciente al género *Bacillus*. La mitad de los centros (115, el 50,8%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa, mientras que el 23,4% informó género *Bacillus*, y un 12,8% otras especies diferentes de *Bacillus*; con lo que el 86,8% de los centros participantes encuadraron correctamente la cepa dentro del género *Bacillus*. La totalidad de las identificaciones informadas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Bacillus licheniformis</i>	115	50,8
Género <i>Bacillus</i>	53	23,4
<i>Bacillus cereus</i>	19	8,5
Bacilo grampositivo	10	4,5
<i>Bacillus subtilis</i>	8	3,6
<i>Agrobacterium tumefaciens (Rhizobium radiobacter)</i>	3	1,4
Género <i>Cellulomonas</i>	3	1,4
<i>Bacillus circulans</i>	1	0,4
<i>Bacillus thuringiensis</i>	1	0,4
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0,4
<i>Clostridium beijerinckii</i>	1	0,4
<i>Clostridium ramosum</i>	1	0,4
<i>Corynebacterium</i> grupo ANF	1	0,4
<i>Corynebacterium striatum</i>	1	0,4
<i>Escherichia coli</i>	1	0,4
Género <i>Aureobacterium</i>	1	0,4
Género <i>Corynebacterium</i>	1	0,4
<i>Leifsonia aquatica (Corynebacterium aquaticum)</i>	1	0,4
<i>Rhodococcus equi</i>	1	0,4
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	0,4
<i>Staphylococcus lentus</i>	1	0,4
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1	0,4
No se obtiene crecimiento	1	0,4
Total	227	100,0

En este control, más de la mitad de los centros (127, el 56,2%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 49 (21,7%) las usaron como único método (tabla 2). Respecto a las pruebas manuales, fueron informadas por 119 laboratorios (52,7%), 63 de ellos (27,9%) de forma única. La espectrometría de masas fue utilizada por 39 centros (17,3%). Por último, 15 laboratorios (6,6%) realizaron un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Manual	63	27,9
Manual + comercial	51	22,6
Comercial	49	21,7
Comercial + espectrometría de masas	23	10,2

Espectrometría de masas	12	5,3
Manual + secuenciación	7	3,1
Secuenciación	5	2,2
Manual + espectrometría de masas	3	1,4
Comercial + secuenciación	2	0,9
Comercial + PCR	1	0,4
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,4
Manual + aglutinación	1	0,4
Manual + PCR	1	0,4
No informa	7	3,1
Total	226	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron las galerías bioquímicas API, usadas en conjunto por 66 centros (agrupando el API Coryne, el API 20 E, el API 50 CH, el API 20 Strep, el API 20 A, el API 20 NE, y los API en los que no se especificaron el tipo). Le siguen en frecuencia el Maldi-Tof (39 centros), el sistema automatizado Vitek 2 (19 centros) y la galería BBL Crystal (7 centros). La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 4.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial ^a	Número	% uso	% acierto
Galerías API			
API Coryne	19	13,1	26,3
API 20 E	17	11,7	58,8
API 50 CH	16	11,0	87,5
API 20 Strep	3	2,0	66,7
API 20 A	1	0,7	0,0
API 20 NE	1	0,7	100,0
API no especificado	9	6,2	44,4
Maldi-Tof	39	26,9	97,4
Vitek 2	19	13,1	26,3
BBL Crystal	7	4,8	85,7
Microscan	4	2,8	75,0
Phoenix	2	1,4	100,0
RapID CB Plus (Remel)	2	1,4	0,0
Sensititre	1	0,7	0,0
No específica	5	3,5	60,0
Total	145	100,0	63,4

^aEmpleados solos ó combinados con otras pruebas.

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

Sistema	Número usuarios	<i>B. licheniformis</i>	<i>B. subtilis</i>	Género <i>Bacillus</i>	Otras especies de <i>Bacillus</i>	Otras especies diferentes a <i>Bacillus</i>
Maldi-Tof	39	38 (97,4)	1 (2,6)	0	0	0
Vitek 2	19	5 (26,3)	0	3 (15,8)	2 (10,5)	9 (47,4)
API 50 CH	16	14 (87,6)	1 (6,2)	1 (6,2)	0	0
BBL Crystal	7	6 (85,7)	0	1 (14,3)	0	0

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 197 centros que realizaron una identificación mínima de género *Bacillus*. De ellos, solamente 25 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 172 antibiogramas. Fueron 116 (67,4%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 92 (53,5%) lo hicieron de forma exclusiva. Hubo 45 laboratorios que determinaron la CMI mediante una técnica de microdilución en caldo (26,2%), de los que 28 (16,3%) lo hicieron de forma única. Las tiras de E-test fueron utilizadas por 41 de los centros (23,8%), 21 de los cuales (12,2%) como método único (tabla 5).

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Disco-placa	92	53,5
CMI por microdilución	28	16,3
E-test	21	12,2
Disco-placa + E-test	12	7,0

CMI + disco-placa	9	5,2
CMI + E-test	5	2,9
CMI + disco-placa + E-test	3	1,7
No especificado	2	1,2
Total	172	100,0

Sobre un total de 45 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante el método de microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (44,5%), Wider (20,0%), Sensititre (11,1%) y Vitek 2 (6,7%). Los datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Microscan	20	44,5
Wider	9	20,0
Sensititre	5	11,1
Vitek 2	3	6,7
Preparación propia	2	4,4
No específica	6	13,3
Total	45	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 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 correspondientes al grupo de microorganismos *Bacillus* para la interpretación de los resultados.

Tabla 7. Interpretación cualitativa de la sensibilidad antibiótica de la cepa.

Antibiótico	Interpretación ^a
Penicilina	S
Imipenem	S
Ciprofloxacino	S
Eritromicina	R
Claritromicina	R
Clindamicina	R
Gentamicina	S
Vancomicina	S
Linezolid	S
Rifampicina	S
Doxiciclina	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 8), 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 8. Antibiograma ideal según tres profesionales.

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

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 17 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 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. 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 (penicilina, imipenem, eritromicina, clindamicina, ciprofloxacino, gentamicina, vancomicina, rifampicina).

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Penicilina	112	94 (83,9)	3 (2,7)	15 (13,4)	0
Ampicilina	51	49 (96,0)	0	1 (2,0)	1 (2,0)
Amoxicilina-clavulanato	36	36 (100,0)	0	0	0
Cefotaxima	48	40 (83,3)	1 (2,1)	7 (14,6)	0
Imipenem	76	75 (98,7)	0	0	1 (1,3)
Eritromicina	100	5 (5,0)	6 (6,0)	89 (89,0)	0
Clindamicina	134	10 (7,5)	2 (1,5)	122 (91,0)	0
Ciprofloxacino	76	73 (96,1)	0	2 (2,6)	1 (1,3)
Levofloxacino	35	35 (100,0)	0	0	0
Cotrimoxazol	45	41 (91,1)	0	4 (8,9)	0
Gentamicina	122	116 (95,1)	0	5 (4,1)	1 (0,8)
Vancomicina	155	153 (98,7)	0	0	2 (1,3)
Linezolid	45	41 (91,1)	0	0	4 (8,9)
Rifampicina	61	60 (98,4)	0	0	1 (1,6)
Tetraciclina	45	45 (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: 202 laboratorios (89,4%) afirmaron no haberlo utilizado, 6 centros (2,6%) declararon haberlo requerido, y 18 centros (8,0%) lo utilizaron parcialmente.

COMENTARIOS

Los comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas (16), principalmente el tratamiento con vancomicina (o penicilina), asociada a la gentamicina, junto a la retirada del catéter.

Nueve centros, que informaron la cepa problema como perteneciente al género *Bacillus*, comentaron explícitamente que no disponían de sistemas comerciales o pruebas bioquímicas adicionales para llegar a la identificación de especie. Otros cuatro centros mencionaron que *B. licheniformis* presenta resistencia intrínseca a los macrólidos. También cuatro centros comentaron que habitualmente el género *Bacillus* era un contaminante, pero que debía tenerse en cuenta en pacientes inmunodeprimidos.