

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-3/13)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Staphylococcus aureus*, que era resistente a la meticilina (SARM). La historia clínica correspondía a un paciente varón de 85 años de edad, que sufría una EPOC severa, por la que requería de oxígeno domiciliario; además era diabético e hipertenso. El paciente, que periódicamente era atendido por una unidad de hospitalización domiciliaria, presentaba una úlcera varicosa en miembro inferior derecho, cuyo aspecto había empeorado en los últimos días. En el momento de la exploración, se objetivaba una zona intensamente inflamada, abscesificada, con áreas de necrosis incipiente. El médico, tras ver el mal aspecto de la lesión, realizó una limpieza extensa de la zona afectada y tomó muestras que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio microscópico y cultivo bacteriológico y micológico. A las 24 h de incubación, se observó el crecimiento de la cepa que es objeto del presente control

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el **estudio de sensibilidad** de la cepa remitida. Así mismo, podían realizarse 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 que la cepa del control era resistente a la meticilina.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 250 centros participantes, de los que 233 remitieron hoja de respuesta con respuestas valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 93,2%, porcentaje idéntico al del último control. Como se puede observar en la tabla 1, la gran mayoría de los participantes identificaron correctamente el género y la especie (98,4%). Algunas de las respuestas discordantes fueron debidas a identificaciones cruzadas de otros controles diferentes del programa. Por parte del Programa de Control de Calidad SEIMC, sólo se consideró válida la identificación correcta del género y de la especie microbiana (*S. aureus*).

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	229	98,4
<i>Chryseomonas luteola</i>	1	0,4
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	1	0,4
<i>Escherichia coli</i>	1	0,4
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	0,4
Total	233	100,0

Por lo que respecta a los métodos de identificación bacteriana, en este control la gran mayoría de los centros (205, el 88,0%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 127 (54,5%) las usaron como único método (tabla 2). Las pruebas de aglutinación frente a la proteína A y al factor de agregación ("clumping factor") de *S. aureus*, fueron informadas por 61 laboratorios (26,2%). Respecto a las pruebas manuales, solamente fueron informadas por 32 centros (13,7%), principalmente combinadas con otro método. La espectrometría de masas fue utilizada por 22 centros (9,5%), mientras que dos centros (0,8%) emplearon inmunocromatografía asociada a otro método. Por último, sólo 1 laboratorio (0,9%) realizó un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa junto con un método comercial y espectrometría de masas.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	127	54,5
Comercial + aglutinación	47	20,2
Manual + comercial	14	6,0
Espectrometría de masas	10	4,3
Comercial + espectrometría de masas	9	3,9
Manual	9	3,9
Manual + aglutinación	4	1,8
Manual + comercial + aglutinación	4	1,8
Aglutinación	3	1,2
Comercial + aglutinación + inmunocromatografía	1	0,4
Comercial + inmunocromatografía	1	0,4
Comercial + secuenciación + espectrometría de masas	1	0,4
Espectrometría de masas + aglutinación	1	0,4
Manual + comercial + aglutinación + espectrometría de masas	1	0,4
No informa	1	0,4
Total	233	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se muestran en la tabla 3, mientras que la capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 4. Los más empleados fueron el Microscan (102 centros) y el Vitek 2 (73 centros), seguidos del MALDI-TOF (22 centros) y del Wider (16 centros). Todos los

sistemas comerciales identificaron correctamente la cepa de *S. aureus*, a excepción del Vitek 2 (97,3% de aciertos) y del Wider (93,8%). No obstante, hay que matizar que, en el caso del Vitek 2, uno de los dos centros que fallaron en la identificación había empleado una tarjeta para la identificación de bacilos gramnegativos. En el caso del Wider, el participante que respondió *E. coli* fue debido a una confusión con la cepa problema (cepa perteneciente al control mensual BX-Octubre-13), por lo que no fue un fallo real de equipo comercial.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Microscan	102	45,0	100,0
Vitek 2	73	32,2	97,3
MALDI-TOF	22	9,7	100,0
Wider	16	7,0	93,8
API Staph	6	2,7	100,0
Phoenix	5	2,2	100,0
API Coryne	1	0,4	0,0
RapID STAPH Plus (Remel)	1	0,4	100,0
Sensititre	1	0,4	100,0
Total	227	100,0	94,2

Tabla 4. Resultados de identificación de *S. aureus* con los sistemas mayoritarios.

Sistema	Número usuarios	<i>S. aureus</i>	<i>C. luteola</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Microscan	102	102 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Vitek 2	73	71 (97,2)	1 (1,4)	0 (0,0)	1 (1,4)
MALDI-TOF	22	22 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Wider	16	15 (93,8)	0 (0,0)	1 (6,2)	0 (0,0)
API Staph	6	6 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Phoenix	5	5 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (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 229 centros que realizaron la identificación correcta de *S. aureus*. Un solo centro no realizó estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 228 antibiogramas.

Como se observa en la tabla 5, la tendencia mayoritaria fue utilizar una técnica automatizada de microdilución para determinar la CMI (209 participantes, el 91,7%), empleándose como método único en el 68,9% de los casos. La técnica de difusión en disco-placa fue realizada por 46 participantes, lo que supone un 20,2%, y de forma única por el 6,6% de los centros. Se realizó E-test® en 33 laboratorios (14,5%), empleados en todos los casos junto con otro método de sensibilidad. Por último, solamente hubo un participante (0,5%) que no especificó el método empleado.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
CMI por microdilución	157	68,9
CMI + E-test®	24	10,5
CMI + disco-placa	22	9,6
Disco-placa	15	6,6
CMI + disco-placa + E-test®	6	2,6
Disco-placa + E-test®	3	1,3
No especificado	1	0,5
Total	228	100,0

Sobre un total de 209 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (49,7%) y Vitek 2 (38,3%), seguidos del Wider (8,1%). Los datos se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Microscan	104	49,7
Vitek 2	80	38,3
Wider	17	8,1
Phoenix	5	2,4

Sensititre	2	1,0
Preparación propia	1	0,5
Total	209	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica, según el centro que actuó como laboratorio de referencia, se muestran en la tabla 7. Fueron obtenidos mediante una técnica de microdilución en caldo (Microscan). 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 género *Staphylococcus* para la interpretación de los resultados.

Tabla 7. Sensibilidad antibiótica de referencia.

Antibiótico	CMI ($\mu\text{g/ml}$)	Interpretación ^a
Penicilina	>0,25	R
Amoxicilina-clavulanato	$\leq 4/2$	R
Oxacilina	>2	R
Cefoxitina	-	R
Eritromicina	$\leq 0,5$	S
Clindamicina	$\leq 0,25$	S
Levofloxacino	>4	R
Gentamicina	≤ 1	S
Tobramicina	>8	R
Cotrimoxazol	≤ 1	S
Tetraciclina	≤ 1	S
Rifampicina	$\leq 0,5$	S
Vancomicina	1	S
Linezolid	≤ 2	S
Daptomicina	≤ 1	S
Mupirocina	>256	R
Ácido fusídico	≤ 2	S

^aR: resistente; S: sensible.

Por otra parte, como en otras ocasiones, se solicitó a tres profesionales con experiencia una relación de los antibióticos que consideraran que deberían 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
Oxacilina	Oxacilina	Oxacilina
Cefoxitina	Cefoxitina	Cefoxitina
Eritromicina	Eritromicina	Eritromicina
Clindamicina	Clindamicina	Clindamicina
Daptomicina	Daptomicina	Daptomicina
Levofloxacino		Levofloxacino
	Ciprofloxacino	
Gentamicina	Gentamicina	Gentamicina
	Tobramicina	
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol
	Tetraciclinas	Tetraciclinas
Rifampicina	Rifampicina	Rifampicina
Vancomicina	Vancomicina	Vancomicina
Linezolid	Linezolid	Linezolid

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, oxacilina, eritromicina, clindamicina, levofloxacino, gentamicina, cotrimoxazol y vancomicina.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En este control se solicitó de nuevo a los participantes que informasen que criterios de puntos de corte utilizaron para la interpretación del antibiograma. De los 228 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación de *S. aureus*, 170 (74,6%) utilizaron los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), otros 53 (23,3%) los del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), 3 (1,3%) según la bibliografía, y los 2 restantes (0,8%) se basaron en otros criterios: uno informó la interpretación que realiza su sistema comercial automatizado (Vitek 2) desconociendo qué criterios seguía, mientras el laboratorio restante envió la cepa a su laboratorio de referencia. Ver tabla 9.

Tabla 9. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Marca	Número	%
CLSI	170	74,6
EUCAST	53	23,3
Bibliografía	3	1,3
Según interpretación del analizador	1	0,4
Antibiograma realizado en centro referencia	1	0,4
Total	228	100,0

En la tabla 10 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue igual o superior a 38. En total, se han recibido resultados correspondientes a 37 antibióticos diferentes.

Tabla 10. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Penicilina	110	–	–	110 (100,0)
Amoxicilina-clavulanato	61	2 (3,3)	–	59 (96,7)
Oxacilina	197	1 (0,5)	–	196 (99,5)
Eritromicina	181	159 (87,9)	20 (11,0)	2 (1,1)
Clindamicina	210	207 (98,5)	2 (1,0)	1 (0,5)
Ciprofloxacino	105	1 (1,0)	1 (1,0)	103 (98,0)
Levofloxacino	146	2 (1,4)	6 (4,1)	138 (94,5)
Gentamicina	182	181 (99,5)	–	1 (0,5)
Tobramicina	62	1 (1,6)	–	61 (98,4)
Cotrimoxazol	168	167 (99,4)	–	1 (0,6)
Rifampicina	129	128 (99,2)	–	1 (0,8)
Tetraciclina	38	–	–	38 (100,0)
Fosfomicina	53	53 (100,0)	–	–
Vancomicina	210	206 (98,1)	–	1 (0,5)
Teicoplanina	114	112 (98,3)	–	2 (1,7)
Linezolid	170	168 (98,8)	–	2 (1,2)
Daptomicina	112	111 (99,1)	–	1 (0,9)
Mupirocina	123	1 (0,8)	–	122 (99,2)
Ácido fusídico	81	81 (100,0)	–	–

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

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados coincidentes con los aportados por el laboratorio de referencia para los principales antibióticos ensayados, de modo que el índice de concordancia fue en todos los casos superior al 94%, con la única excepción de la eritromicina, en el que el porcentaje de concordancia fue algo menor, del 87,9%. Curiosamente, todos los centros que informaron la eritromicina como intermedia (20 laboratorios) o resistente (2) emplearon el Vitek 2, obteniendo en todos los casos una CMI de 1 µg/ml, que sería intermedio según los criterios del CLSI y sensible según EUCAST.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE SENSIBILIDAD CUANTITATIVA A LA VANCOMICINA

El valor de CMI obtenido por el laboratorio de referencia, mediante el sistema comercial Microscan, fue de 1 µg/ml, que es también el valor de CMI más informado por los participantes.

Respecto a las diferentes marcas comerciales empleadas, la mayoría de participantes que informaron una CMI a la vancomicina ≤ 1 µg/ml emplearon el Vitek 2 o el Wider, mientras que muchos de los laboratorios que informaron un valor de CMI comprendido entre 1 y 2 µg/ml utilizaron el Microscan o las tiras de E-test. Sorprende el resultado informado como resistente a la vancomicina con una CMI superior a 32 µg/ml, informado por un laboratorio, que empleó el Vitek 2. Los datos se encuentran en la tabla 11.

Tabla 11. Resultados cuantitativos de sensibilidad a la vancomicina.

CMI	Número de centros según marca del antibiograma ^a
-----	---

(µg/ml)	Microscan	Vitek 2	Wider	Phoenix	Sensititre	Preparación propia	E-test	CMI + E-test ^b	Total
≤0,5	–	36 (100,0)	–	–	–	–	–	–	36
≤1	10 (50,0)	–	9 (40,0)	–	1 (10,0)	–	–	–	20
0,5	–	–	–	–	–	1 (100,0)	–	–	1
0,75	–	–	–	–	–	–	1 (100,0)	–	1
1	23 (33,8)	26 (38,3)	3 (4,4)	4 (5,9)	–	–	6 (8,8)	6 (8,8)	68
1,5	–	–	–	–	–	–	6 (66,7)	3 (33,3)	9
2	46 (79,3)	5 (8,7)	2 (3,4)	1 (1,7)	–	–	3 (5,2)	1 (1,7)	58
>32	–	1 (100,0)	–	–	–	–	–	–	1
Total	79	68	14	5	1	1	16	10	194

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada marca. ^bCentros que realizan un sistema comercial de determinación de la CMI junto con el E-test.

DETECCIÓN DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA

Como ya se ha indicado, el objetivo principal de este control era comprobar si los participantes eran capaces de detectar la resistencia a la metilina que presentaba la cepa de *S. aureus*. La respuesta óptima fue la que aportaron los participantes que especificaron explícitamente la resistencia a la metilina (SARM) de dicha cepa. Como se observa en la tabla 12, fueron 139 (59,7%) los centros que comunicaron explícitamente que se trataba de una cepa SARM, mientras que otros 87 (37,4%) participantes informaron la oxacilina como resistente sin comentar explícitamente esta característica especial. En resumen, 226 participantes (el 97,0%) mostraron capacitación para detectar una cepa SARM.

Tabla 11. Comentarios sobre la característica especial de la cepa.

Característica especial	Número	%
Cepa SARM (comentario explícito)	139	59,7
Cepa SARM (implícito en el antibiograma)	87	37,4
Cepa SARM (informan la oxacilina como sensible)	1	0,4
Hacen antibiograma sin informar la oxacilina / cloxacilina / cefoxitina	1	0,4
No realizan antibiograma	1	0,4
Informan una especie diferente a <i>S. aureus</i>	4	1,7
Total	233	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: 224 laboratorios (96,2%) afirmaron no haberlo utilizado, 4 centros (1,7%) declararon haberlo requerido y 5 centros (2,1%) lo utilizaron parcialmente.

COMENTARIOS

Como se ha señalado anteriormente, muchos participantes (139 centros) comentaron que se trataba de una bacteria de *S. aureus* resistente a la metilina. Algunos de ellos (33), además, añadieron que era resistente a la mupirocina, por lo que en caso de descolonización nasal, habría que administrar ácido fusídico.

Otros comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas (20), principalmente la administración de cotrimoxazol, clindamicina o linezolid, así como algunos de los mismos desaconsejaban la utilización de la vancomicina, debido a que el aislado presentaba una CMI para este antibiótico de 1-2 µg/ml.

Por último, seis centros aconsejaban informar a Medicina Preventiva y llevar a cabo medidas de aislamiento del paciente.