

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-4/14)

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 portadora del gen de la verotoxina 2 (*stx2*), empleando métodos manuales para su identificación y una PCR, DEC-PCR de SSI Diagnostika, para la detección de factores de patogenicidad (detección del gen de verotoxina). La historia clínica correspondía a un niño de 9 años de edad, sin antecedentes patológicos de interés que fue llevado a su pediatra de zona por presentar un cuadro de vómitos alimenticios y diarrea con fuerte dolor abdominal a la deposición de 24 horas de evolución. Se trataba de una diarrea líquida con sangre en heces, pero sin moco ni pus. No había presentado fiebre. A la exploración, el niño presentaba signos leves de deshidratación. La madre comentaba, como dato de interés, que el niño había estado en un establecimiento de comida rápida celebrando un cumpleaños y que uno de sus amiguitos comenzaba a presentar síntomas similares. 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 hematíes. A las 24 horas de incubación creció la bacteria que fue 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 (cuyo serotipo más importante es el 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 239 centros participantes, de los que 222 remitieron hoja de respuesta con respuestas valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 92,9%, similar al del último control (94,6%). Todos los participantes, excepto dos, identificaron correctamente el género y la especie, de los que un 87,3% informaron además correctamente el serotipo de la cepa control o, al menos, indicaron en sus observaciones la probabilidad de que se tratase de dicho serotipo (tabla 1). Los dos resultados discrepantes fueron debidos a un centro que consideró la cepa remitida como flora habitual de las heces, y a otro que seguramente informó un resultado de otro control diferente a éste (error “pre o post-analítico”).

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	194	87,3
<i>Escherichia coli</i>	24	10,8
<i>Escherichia coli</i> enterotóxico	2	0,9
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	0,5
Flora saprófita	1	0,5
Total	222	100,0

En este control, la mayoría de los centros (191, el 86,0%) empleó técnicas comerciales para identificar la cepa, utilizándolas como único método 83 (37,4%). La aglutinación de látex frente al antígeno O157:H7 fue informada por 90 participantes (el 40,6%). Respecto a la espectrometría de masas, fue usada en este control por 25 participantes (11,3%), y en el 2,2% de las ocasiones se empleó como único método.

Hubo 22 laboratorios (9,9%) que realizaron una prueba de inmunocromatografía frente al antígeno O157:H7 o frente a las toxinas Shiga. Las pruebas manuales fueron informadas sólo por 15 laboratorios (el 6,8%), la mayoría de ellas utilizadas en combinación con otro método. Por último, hubo trece laboratorios (5,9%) que informaron de alguna PCR frente a diversos genes de *E. coli*. La totalidad de los métodos empleados se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	83	37,4
Comercial + Aglutinación	63	28,4
Comercial + Inmunocromatografía	13	5,8
Comercial + PCR	8	3,6
Espectrometría de masas + Aglutinación	6	2,7
Comercial + Espectrometría de masas + Aglutinación	6	2,7
Comercial + Espectrometría de masas	5	2,2
Espectrometría de masas	5	2,2
Manual + Comercial + Aglutinación	4	1,8
Inmunocromatografía	3	1,3
Manual + Aglutinación	3	1,3
Manual + Comercial	3	1,3
Comercial + Aglutinación + Inmunocromatografía	2	0,9

Comercial + Aglutinación + PCR	2	0,9
Manual	2	0,9
Aglutinación	1	0,5
Comercial + Espectrometría masas + Aglutinación + IC	1	0,5
Comercial + Inmunocromatografía + PCR	1	0,5
Espectrometría de masas + Aglutinación + PCR	1	0,5
Espectrometría de masas + Inmunocromatografía	1	0,5
Manual + Aglutinación + PCR	1	0,5
Manual + Inmunocromatografía	1	0,5
Manual + Secuenciación	1	0,5
No informa	6	2,7
Total	222	100,0

IC: inmunocromatografía.

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron los equipos Microscan (86 centros) y el Vitek 2 (78 centros), seguidos del MALDI-TOF (informado por 25 laboratorios, agrupando Bruker y Vitek) y del Wider (10 centros). Todos ellos identificaron correctamente la especie de la cepa y la mayoría de los mismos fueron capaces de detectar (o alertar de la probabilidad) del serotipo O157:H7, si bien hay que tener en cuenta que en muchas de las ocasiones fueron empleados junto con pruebas adicionales para la detección del serotipo, como la aglutinación.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial ^a	Número	% uso	% acierto ^b
Microscan	86	39,8	88,4
Vitek 2	78	36,1	94,9
Maldi-Tof (Bruker, Vitek)	25	11,6	88,0
Wider	10	4,6	70,0
Galerías API			
API 20E	5	2,3	60,0
API 10S	2	0,9	50,0
Phoenix	3	1,4	67,0
BBL Crystal	1	0,5	100,0
Sensititre	1	0,5	100,0
No informa	5	2,3	80,0
Total	216	100,0	88,4

^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 220 participantes que informaron la identificación de *E. coli*, 40 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 180 antibiogramas. El motivo principal por el que no informaron el antibiograma (así lo indicaron la mayoría de ellos en sus comentarios) es que el tratamiento antibiótico en este tipo de infecciones no está recomendado ya que puede desencadenar un síndrome urémico hemolítico.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 160 (88,9%), empleándose como método único en el 80,0% de los casos. Fueron 35 (19,5%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 19 (10,5%) lo hicieron de forma exclusiva. Solamente un laboratorio (0,6%) utilizó tiras de E-test®, combinadas con otros métodos. Por último, hubo un participante que no especificó el método empleado (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
CMI por microdilución	144	80,0
Disco-placa	19	10,5
CMI + disco-placa	15	8,3
CMI + disco-placa + E-test®	1	0,6
No especificado	1	0,6
Total	180	100,0

Sobre un total de 160 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (58,1%) y Vitek 2 (31,2%), seguidos del Wider (6,9%). Los datos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Microscan	93	58,1
Vitek 2	50	31,2
Wider	11	6,9
Phoenix	3	1,9
Sensititre	2	1,3
Preparación propia	1	0,6
Total	160	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 (Sensititre) 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 (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) correspondientes a la familia *Enterobacteriaceae* para la interpretación de los resultados.

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

Antibiótico	CMI	Interpretación ^a
Ampicilina	≤ 4	S
Amoxicilina-clavulanato	≤ 4/2	S
Piperacilina-tazobactam	≤ 8/4	S
Cefotaxima	≤ 0,5	S
Ceftazidima	≤ 0,25	S
Cefepima	≤ 1	S
Imipenem	≤ 1	S
Ciprofloxacino	≤ 0,12	S
Cotrimoxazol	≤ 2/38	S
Gentamicina	≤ 1	S
Tobramicina	≤ 2	S
Amikacina	≤ 4	S

^aS: sensible.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

Se solicitó a los participantes que informasen que criterios de puntos de corte utilizaron para la interpretación del antibiograma. De los 180 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de *E. coli*, 122 (67,8%) utilizaron los criterios del CLSI, otros 53 (29,5%) los del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), 3 (1,6%) según la bibliografía, mientras que los 2 restantes (1,1%) no aportan información al respecto. Estos datos se resumen en tabla 8

Tabla 8. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Marca	Número	%
CLSI	122	67,8
EUCAST	53	29,5
Bibliografía	3	1,6
No informan	2	1,1
Total	180	100,0

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 30. En total, se han recibido resultados correspondientes a 38 antibióticos diferentes.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Ampicilina/amoxicilina	159	154 (96,9)	1 (0,6)	4 (2,5)
Amoxicilina-clavulanato	126	122 (96,8)	2 (1,6)	2 (1,6)
Cefalotina	30	30 (100,0)	0	0
Cefuroxima	72	71 (98,6)	1 (1,4)	0
Cefotaxima	108	106 (98,2)	1 (0,9)	1 (0,9)

Ceftazidima	38	38 (100,0)	0	0
Cefepima	44	44 (100,0)	0	0
Ertapenem	30	30 (100,0)	0	0
Imipenem	63	62 (98,4)	1 (1,6)	0
Gentamicina	114	114 (100,0)	0	0
Amikacina	38	38 (100,0)	0	0
Ciprofloxacino	156	155 (99,4)	0	1 (0,6)
Cotrimoxazol	149	114 (100,0)	0	0
Fosfomicina	37	37 (100,0)	0	0

^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 (ampicilina/amoxicilina, amoxicilina-clavulanato, cefalotina, cefuroxima, cefotaxima, cefepima, imipenem, gentamicina, amikacina, ciprofloxacino, cotrimoxazol y fosfomicina).

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: 185 laboratorios (83,4%) afirmaron no haberlo utilizado, 13 centros (5,8%) si lo necesitaron, y 23 centros (10,3%) lo emplearon sólo parcialmente. Por último, un centro (0,5%) que envió el informe de forma manual, no aportó información al respecto.

En comparación a otros controles anteriores, en éste se ha producido un aumento importante de la utilización de un laboratorio externo, posiblemente en relación a que bastantes laboratorios carecían de una prueba confirmatoria del serotipo O157:H7 (como aglutinación de látex, inmunocromatografía o PCR).

COMENTARIOS

El comentario mayoritario ha sido, como ya se ha mencionado en el presente análisis, 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 (48 centros).

Otros comentarios fueron que la cepa era productora de verotoxina –toxina Shiga- tipo 2 (30 centros), que era sorbitol negativa (26 participantes), que se debería enviar a un laboratorio de referencia para la búsqueda de la verotoxina o serotipado (otros 17 participantes), o bien, comentan explícitamente que se derivó la cepa a un centro de referencia para el serotipado (6 centros).

Algunos centros (20) especificaron las marcas comerciales de los reactivos que emplearon para la detección del serotipo O157 o de las toxinas, aunque estos datos no se muestran en el presente análisis de resultados. Por último, seis centros comentaron que no obtuvieron aglutinación para el antígeno H7.