

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-1/07)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una cepa caracterizada por varios laboratorios de referencia. A diferencia de otras ocasiones, **la cepa remitida no era la misma para todos los participantes**, de manera que, aproximadamente al 50% de los participantes, se les remitió una de *Streptococcus pyogenes* fenotipo M (**grupo 1**), y al resto una cepa de *Arcanobacterium haemolyticum* (**grupo 2**).

La historia clínica que lo acompañaba correspondía a un paciente joven, sin antecedentes patológicos de interés, que acudió a urgencias por presentar un cuadro clínico de exantema pruriginoso en tronco y extremidades superiores, fiebre y odinofagia, de 24 h de evolución. En la exploración física se observó hipertrofia amigdalara con exudado pultáceo. Se tomaron muestras del exudado faríngeo que fueron remitidas al laboratorio de Microbiología para la detección de antígeno de *Streptococcus pyogenes* y cultivo, así como de suero para descartar un síndrome mononucleósico. A las 24 h de incubación se detectó un crecimiento bacteriano, siendo éste el objeto del control.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el estudio de **sensibilidad** de la/s bacteria/s remitida/s. Así como la realización de los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que estimasen oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

Las cepas problema fueron enviadas a un total de 276 laboratorios de los que 250 remitieron hoja de respuesta (90,6%). Sólo se aceptaron como válidas las respuestas con la identificación de *S. pyogenes* en el primer grupo y de *A. haemolyticum*/Género *Arcanobacterium* en el segundo. De este modo el porcentaje de aciertos total fue del 91,6% (229 respuestas) y, en cada grupo, del 97,6% y del 85,6%, respectivamente. Se observó una mayor dispersión de las identificaciones en el grupo *Arcanobacterium* (tabla 1). Dadas las diferencias microbiológicas, sorprende que siete centros de este grupo identificaran la bacteria como *S. pyogenes*; lo contrario se produjo en tres ocasiones.

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Cepa remitida	Identificación	Número	% ^a
Grupo A: <i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>S. pyogenes</i>	122	48,8
	<i>A. haemolyticum</i>	3	1,2
	Total	125	50,0
Grupo B: <i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>A. haemolyticum</i>	106	42,4
	Género <i>Arcanobacterium</i>	1	0,4
	<i>S. pyogenes</i> /grupo A	7	2,8
	<i>Streptococcus mitis/milleri</i>	2	0,8
	Otros ^b	9	3,6
	Total	125	50,0
Grupos A+B	Total	250	100,0

^aPorcentaje respecto al total de respuestas (n=250).

^bIdentificaciones obtenidas por un solo participante: género *Corynebacterium*, género *Actinomyces*, *Erysipelotrix rhusiopathiae*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, estreptococo del grupo G, estreptococo β-hemolítico, bacilo grampositivo

Por lo que respecta a los métodos de identificación bacteriana, 139 participantes (55,6%) emplearon técnicas comerciales, y de ellos, 108 centros (43,2%) lo hicieron de forma aislada. El número de participantes que utilizó métodos comerciales para la identificación fue mayor en el grupo B, 95 (76,0%) frente a 44 (35,2%) del grupo A. El porcentaje de participantes que emplearon métodos manuales como técnica única fue del 16,8%. Finalmente, el 4,4% de los centros no informó del método empleado. Los resultados se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Grupo A Nº (%) ^a	Grupo B Nº (%) ^a	Nº total (%) ^b
Comercial	33 (26,4)	75 (60,0)	108 (43,2)
Manual	21 (16,8)	21 (16,8)	42 (16,8)
Aglutinación	29 (23,2)	0 (0,0)	29 (11,6)
Manual +comercial	4 (3,2)	18 (14,4)	22 (8,8)
Manual+aglutinación	27 (21,6)	2 (1,6)	29 (11,6)
Comercial+aglutinación	6 (4,8)	1 (0,8)	7 (2,8)
Comercial+manual+aglutinación	1 (0,8)	0 (0,0)	1 (0,4)
Secuenciación	0 (0,0)	1 (0,8)	1 (0,4)
No informa	4 (3,2)	7 (5,6)	11 (4,4)
Total	125	125	250 (100,0)

^a% respecto al nº de métodos informados en cada grupo (n=125).

^b% respecto al total de métodos informados (n=250).

En la tabla 3 se especifican las marcas y sistemas comerciales utilizados para la identificación. En el grupo 1, el sistema más empleado fueron las galerías API [API 20 Strep y Rapid ID 32 Strep (36,3%)], mientras que en el segundo grupo, lo fue la galería API Coryne (90,5%). Sólo dos centros no especificaron la marca comercial empleada.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Grupo 1 Nº (%) ^a	Grupo 2 Nº (%) ^a	Nº total (%) ^b
Galerías API			
API 20 Strep	14 (31,8)	1 (1,0)	15 (10,8)
API Coryne	1 (2,3)	86 (90,5)	87 (62,6)
Rapid ID 32 Strep	2 (4,5)	–	2 (1,4)
Vitek 2	8 (18,2)	1 (1,0)	9 (6,5)
Vitek	4 (9,1)	1 (1,0)	5 (3,6)
Microscan	3 (6,8)	2 (2,1)	5 (3,6)
Wider	5 (11,4)	–	5 (3,6)
Phoenix	3 (6,8)	1 (1,0)	4 (2,9)
Sensititre	2 (4,5)	–	2 (1,4)
BBL Crystal	1 (2,3)	1 (1,0)	2 (1,4)
Microseq 500	–	1 (1,0)	1 (1,4)
No especifica el sistema utilizado	1 (2,3)	1 (1,0)	2 (1,4)
Total	44 (100,0)	95 (100,0)	139 (100,0)

^aPorcentaje respecto al número de sistemas en cada grupo (n= 44 y 95).

^bPorcentaje respecto al total de sistemas (n=139).

En las tablas 4 y 5 se resumen las pruebas bioquímicas empleadas, para la identificación de ambas cepas, por los laboratorios de referencia.

Tabla 4. Pruebas de identificación de *Streptococcus pyogenes*^a.

Prueba	Resultado	Prueba	Resultado
Gram	CGP	CAMP	–
Catalasa	–	Bacitracina	S
Oxidasa	–	PYR	+
Hemólisis en agar sangre	β	Voges Proskauer	–
Grupo de Lancefield	A		

^aAbreviaturas: CGP: cocos grampositivos; AS: agar sangre; S: sensible.

Tabla 5. Pruebas de identificación de *Arcanobacterium haemolyticum*^a.

Prueba	Resultado	Prueba	Resultado
Gram	BGP	Fermentación manitol	–
Catalasa	–	Fermentación xilosa	–
Oxidasa	–	CAMP	inhibición
Hemólisis en agar sangre	β	Ureasa	–
Fermentación glucosa	+	Hidrólisis esculina	–
Fermentación maltosa	+		

^aAbreviaturas: BGP: bacilos grampositivos.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta sólo a los centros cuya identificación fue la aceptada por parte del control para ambos grupos (n=122 y n=107, respectivamente). Como puede observarse en la tabla 6, la gran mayoría de los centros de ambos grupos usó técnicas de difusión en disco-placa, en total 164 (71,6%), de los que 143 lo hicieron de forma única (62,4%). El 14,0% de los laboratorios determinó la CMI mediante una técnica de microdilución en caldo, empleándose dicho método como técnica única en el 11,8% de los casos, la mayoría correspondientes al grupo 1. El resto de los datos quedan reflejados en la tabla 6.

Dado que las técnicas comerciales de microdilución en caldo fueron empleadas por muy pocos participantes (n=32), no se ha considerado procedente analizar las marcas utilizadas para su realización. Tan sólo hay que comentar que se empleó una amplia miscelánea de sistemas comerciales, siendo Wider (11 centros) el método comercial referido en más ocasiones (11 centros).

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
CMI	27	11,8
Disco-Placa	143	62,4
Disco-Placa + E-test®	19	8,3
E-test®	5	2,2
CMI ^a + Disco-Placa	2	0,9
CMI ^a + E-test®	3	1,3
No especificado	11	4,8
No realiza	19	8,3
Total	229	100,0

^aCMI por microdilución.

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por los centros que actuaron como laboratorios de referencia se muestran en la tabla 7. 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 estas bacterias. El laboratorio de referencia determinó la sensibilidad de *S. pyogenes* y la de *A. haemolyticum* mediante una técnica de difusión en disco-placa.

Tabla 7. Sensibilidad antibiótica de las cepas control^a.

Antibiótico	<i>S. pyogenes</i>	<i>A. haemolyticum</i>
Penicilina	S	S
Ampicilina	S	–
Amoxicilina-clavulanato	–	S
Imipenem	–	S
Eritromicina	R ^b	S
Clindamicina	S	–
Gentamicina	–	S
Ciprofloxacino	S	S
Tetraciclina	–	S
Vancomicina	S	S

^aR: resistente; S: sensible. ^bFenotipo de resistencia M.

La cepa de *S. pyogenes* presentaba un fenotipo M de resistencia (resistencia a los macrólidos de 14 y 15 átomos, y sensibilidad a los de 16 átomos y a la clindamicina). Esta característica fenotípica fue comentada por el 36,8% de los participantes, mientras que en el año 2000, cuando se envió una cepa similar, tan sólo la informó el 15,9%.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia una lista de los antibióticos que, a su juicio, deberían incluirse en el estudio de sensibilidad de estas cepas (tabla 8), a modo de recomendación 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. 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 para las dos cepas control.

<i>S. pyogenes</i>			<i>A. haemolyticum</i>		
Experto 1	Experto 2	Experto 3	Experto 1	Experto 2	Experto 3
Penicilina	Penicilina Ampicilina	Penicilina	Penicilina	Penicilina	
Eritromicina	Eritromicina	Eritromicina Claritromicina	Eritromicina	Amox-clavul Eritromicina	Eritromicina Claritromicina
Clindamicina	Clindamicina	Clindamicina	Clindamicina		Clindamicina
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Rifampicina	Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Ciprofloxacino
			Cotrimoxazol Tetraciclinas		Tetraciclinas
Vancomicina			Vancomicina	Gentamicina Vancomicina	

Las respuestas de los participantes variaron desde aquéllos que refieren no realizar estudio de sensibilidad, a otros que estudian hasta 15 diferentes. Los antibióticos que fueron informados por un mayor número de participantes se ajustan bastante al "patrón ideal" que se desprende de la opinión de los expertos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En las tablas 9 y 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 22. Se excluyeron aquellos participantes cuya identificación no se consideró aceptable por parte del Programa de Control de Calidad SEIMC.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos (*S. pyogenes*).

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Penicilina	105	104 (99,0)	1 (0,9)	–	–
Eritromicina	110	12 (10,9)	–	98 (89,1)	–
Clindamicina	100	93 (93,0)	2 (2,0)	4 (4,0)	1 (1,0)
Ampicilina/Amoxicilina	45	44 (97,8)	1 (2,2)	–	–
Levofloxacin	28	27 (96,4)	1 (3,6)	–	–
Cefotaxima	28	28 (100,0)	–	–	–
Vancomicina	35	33 (94,3)	–	1 (2,9)	1 (2,9)

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

Tabla 10. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos (*A. haemolyticum*).

Antibiótico	Número	Interpretación ^a		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Eritromicina	81	80 (98,8)	–	1 (1,2)
Clindamicina	70	68 (97,1)	1 (1,4)	1 (1,4)
Penicilina	68	67 (98,5)	–	1 (1,5)
Vancomicina	45	44 (97,8)	–	1 (2,2)
Gentamicina	38	35 (92,1)	–	3 (7,9)
Ciprofloxacino	36	35 (97,2)	–	1 (2,8)
Tetraciclinas	34	34 (100,0)	–	–
Ampicilina	34	34 (100,0)	–	–
Cotrimoxazol	31	3 (9,7)	–	28 (90,3)
Cefotaxima	26	26 (100,0)	–	–
Cefalotina/cefazolina	22	21 (95,4)	–	1 (4,5)
Amoxicilina-clavulanato	22	22 (100,0)	–	–

^aEntre paréntesis se indican los porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

El análisis general de los resultados mostró una notable uniformidad de los resultados y de la interpretación de éstos en ambos grupos, lo que cabía esperar dado el patrón de sensibilidad de ambas cepas control.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación o para el estudio de sensibilidad, se obtuvieron los siguientes datos: 228 centros (91,2%) afirmaron no haberlo utilizado, 11 (4,4%) declararon haberlo requerido, cinco de ellos (2,0%) parcialmente, y otros 11 (4,4%) no aportaron información al respecto.

COMENTARIOS

De forma general, y en el grupo 1, muchos participantes comentaron que el tratamiento de elección era la penicilina y, si el paciente presentaba alergia, la clindamicina. También, y debido a que no se ha detectado resistencia a la penicilina, algún participante comenta que sólo realiza antibiograma en el caso de conocer si existe alergia a los β -lactámicos. Por último, otros comentan que la prueba D-test (resistencia inducible a clindamicina) resultó negativa.

En el otro grupo comentaron, con bastante frecuencia, que el antibiograma no estaba estandarizado ni existían criterios CLSI. Como tratamiento de elección apuntaron los macrólidos o la clindamicina y, como alternativos, la doxiciclina. Por último, alguno comenta que *in vitro* obtuvo sensibilidad a cotrimoxazol pero que lo informó como resistente.

VALORACIÓN POR PARTE DEL PROGRAMA

Desde el Programa de Control de Calidad se hace hincapié en el hecho de que tres laboratorios con una cepa de *S. pyogenes* la identificaron como *A. haemolyticum*, mientras que siete de este último grupo identificó la cepa como *S. pyogenes*, probablemente debido a un intercambio de información entre participantes. Debido a la mayor complejidad organizativa de un control subdividido en grupos, desde el Programa se establecieron controles adicionales estrictos para asegurar que no se producía un cruce de muestras en los envíos.