

## CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B1/08)

En el este control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Bordetella bronchiseptica*. La historia clínica acompañante correspondía a una mujer de 38 años de edad, fumadora de 20 cigarrillos/día y con antecedentes personales de EPOC y sida, sin tratamiento antirretroviral en el momento de consulta, y con una cifra de 50 células CD4+/ $\mu$ L. La paciente acudió a la Unidad de Enfermedades Infecciosas de su hospital por presentar fiebre, tos seca, dolor pleurítico y disnea. En la radiografía simple de tórax se observó un infiltrado alveolo-intersticial en el pulmón derecho. Con el diagnóstico de neumonía, se decidió su ingreso para estudio clínico, además de pautarle antibioterapia empírica con levofloxacino. Las pruebas serológicas frente a patógenos productores de neumonía resultaron negativas, al igual que la detección de antígeno urinario de neumococo y *Legionella*, los hemocultivos y las tinciones de micobacterias. En la tinción de Gram de una muestra de lavado broncoalveolar se observaron leucocitos polimorfonucleares y bacilos gramnegativos. A las 48 h de incubación de las placas se observó un crecimiento bacteriano mayor a  $10^5$  UFC/mL. La bacteria aislada posteriormente fue la que se envió en el control.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el estudio de **sensibilidad** de la cepa remitida. Así mismo, se ofrecía la posibilidad de hacer los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que se estimasen oportunos.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a 280 laboratorios, de los que 265 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 94,6%. Todos excepto uno obtuvieron crecimiento a partir de la siembra del producto liofilizado, por lo que son analizables 264 las hojas de respuesta (94,3%). La mayoría de los participantes identificó correctamente la especie (88,2%) y el 1,1% sólo el género. Por parte del programa de control de calidad se consideró válida la identificación de la especie (*B. bronchiseptica*), por lo que el porcentaje de respuestas correctas fue del 88,2%. El resto de centros aportaron una amplia variedad de identificaciones discordantes y dos no informaron nada en el apartado de identificación, aunque sí realizaron el antibiograma.

**Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.**

Identificación	Número	%
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	233	88,2
<i>Bordetella hinzii</i>	1	0,4
<i>Bordetella parapertusis</i>	1	0,4
Género <i>Bordetella</i>	1	0,4
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	7	2,6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	1,1
<i>Ralstonia paucula</i>	5	1,9
<i>Alcaligenes faecalis</i>	2	0,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	0,7
Miscelánea <sup>a</sup>	7	2,6
No informa	2	0,7
Total	264	100,0

<sup>a</sup>Incluyendo géneros *Alcaligenes*, *Brucella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella pneumoniae*, *Sphingobacterium multivorum*, *Ochrobactrum anthropi*.

Por lo que respecta a métodos de identificación, una amplia mayoría de participantes (90,5%) empleó técnicas comerciales y, de ellos, 24 (9,1%) lo hicieron junto a métodos manuales. El porcentaje de participantes que emplearon métodos manuales como técnica única fue del 3,0%. Finalmente, cuatro de los centros realizaron secuenciación y el 5,3% no informó del método usado. Los resultados se resumen en la tabla 2.

**Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.**

Método	Número	%
Comercial	214	81,1
Manual	8	3,0
Manual + Comercial	24	9,1
Comercial + secuenciación	1	0,4
Manual + secuenciación	1	0,4
Secuenciación	2	0,7
No informa	14	5,3
Total	264	100,0

En la tabla 3 se especifican las marcas y sistemas comerciales utilizados para la identificación. Las galerías bioquímicas API fueron el equipo empleado de forma mayoritaria (39,3%). En tres ocasiones los participantes no

informaron al respecto. Los resultados de identificación erróneos se distribuyeron de forma aleatoria entre los diferentes métodos comerciales; destacando que todos los centros que usaron Vitek/Vitek 2 informaron correctamente el género y la especie.

**Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Método comercial	Número	%
Galerías API	94	39,3
API 20 NE	83	34,7
API Id 32GN	5	2,1
API no especificado	6	2,5
Vitek/Vitek 2	72	30,1
Microscan	49	20,5
Wider	16	6,7
Phoenix	2	0,8
Otros	3	1,2
No especifica el sistema utilizado	3	1,2
Total	239	100,0

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

### GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a todos los centros que realizaron una identificación correcta de género y especie (233). De éstos, uno no realizó estudio de sensibilidad, por lo que se analizan 232 respuestas. El número de centros que determinó la CMI mediante microdilución en caldo fue de 156 (67,2%), de los que 130 lo hicieron de forma única (56,0%), 25 participantes (10,8%) en combinación con el método de difusión en disco-placa y 3 con E-test® (1,9%). Fueron 83 laboratorios los que llevaron a cabo el estudio de sensibilidad mediante el método de difusión disco-placa (14,8%), solo o en combinación con otro método. El 4,3% de los laboratorios realizó E-test®, empleándose dicho método como técnica única en el 2,1% de los casos. Por último, once participantes no especificaron el método empleado (tabla 4).

**Tabla 4. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
CMI por microdilución	130	56,0
Disco-placa	56	24,1
CMI + disco-placa	23	9,9
E-test®	5	2,1
Concentraciones críticas	2	0,8
Disco-placa + E-test®	2	0,8
CMI + E-test® + disco-placa	2	0,8
CMI + E-test®	1	0,4
No especificado	11	4,7
Total	232	100,0

Sobre un total de 156 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución en caldo fueron: Microscan (41,0%) y Vitek/Vitek 2 (39,7%), seguidos de Wider (13,5%), Sensititre (3,2%) y Phoenix (0,6%). La distribución de marcas se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5. Marcas empleadas en el antibiograma.**

Marca	Número	%
Microscan	64	41,0
Vitek/Vitek 2	62	39,7
Wider	21	13,5
Sensititre	5	3,2
Phoenix	1	0,6
No especificado	3	1,9
Total	156	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica, según el centro que actuó como laboratorio de referencia, fueron realizados mediante CMI y difusión en disco-placa, y se muestran en la tabla 6. 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. Dada la ausencia de criterios estándar para interpretar los resultados, éstos deben ser analizados con precaución. Para la interpretación de dichos resultados el laboratorio de referencia

recurrió a diversos criterios: análisis de los valores de CMI obtenidos, analogía con otros gramnegativos no fermentadores para los que sí existen normas estándar, interpretación de datos de la literatura, etc.

**Tabla 6. Sensibilidad antibiótica de la cepa según el laboratorio de referencia.**

Antibiótico	CMI	Interpretación
Ampicilina	>16	R
Amoxicilina-clavulanato	≤8	S
Aztreonam	>16	R
Cefuroxima	–	R
Cefotaxima-Ceftriaxona	>32	R
Ceftazidima	8	S
Cefoxitina	–	R
Ciprofloxacino	1,5	I
Levofloxacino	0,75	S
Cotrimoxazol	≤2	S
Meropenem	–	S
Imipenem	≤2	S
Piperacilina-tazobactam	≤16	S
Gentamicina	≤4	S
Tobramicina	–	S
Amikacina	–	S

S: sensible. R: resistente. I: intermedio.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia una lista de los antibióticos que consideraban que deberían ser incluidos en el estudio de sensibilidad de esta cepa (tabla 7), 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 elemento añadido de la calidad que ofrece. Como en otras ocasiones, estos profesionales basaron su selección de antibióticos 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. Antibiograma ideal según tres profesionales.**

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina
Piperacilina		
Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato
Piperacilina-tazobactam	Cefotaxima/ceftriaxona	Cefotaxima/ceftriaxona
Ceftazidima		
Imipenem		Imipenem
Meropenem		
Ciprofloxacino		Ciprofloxacino
	Levofloxacino	Levofloxacino
Gentamicina		Gentamicina
Tobramicina		
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol
	Doxiciclina	
	Eritromicina	

Las respuestas de los laboratorios variaron desde un centro que no realizó pruebas de sensibilidad a otros que estudian hasta 20 antibióticos diferentes. Los 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 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 65. De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia para la mayoría de los antibióticos ensayados, con la excepción del ciprofloxacino, en donde la mayoría lo interpreta sensible, discrepando de la interpretación (intermedio) informada por el centro que actuó de referencia. La menor uniformidad de interpretaciones observada entre los participantes se detectó con la ampicilina/amoxicilina, amoxicilina-clavulanato, ceftazidima, ciprofloxacino y piperacilina-tazobactam.

**Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Número	Interpretación <sup>a</sup>		
		Intermedio	Resistente	Sensible
Amikacina	96	1 (1,0)	3 (3,1)	92 (95,8)
Amoxicilina-clavulanato	81	8 (9,9)	17 (21,0)	56 (69,1)
Ampicilina/amoxicilina	67	3 (4,5)	59 (88,0)	5 (7,5)
Aztreonam	65	–	60 (92,3)	5 (7,7)
Cefotaxima	109	–	106 (97,2)	3 (2,7)
Ceftazidima	146	15 (10,3)	49 (33,6)	82 (56,2)
Ciprofloxacino	174	44 (25,3)	12 (6,9)	118 (67,8)
Cotrimoxazol	120	–	10 (8,3)	110 (91,7)
Gentamicina	172	2 (1,2)	1 (0,6)	169 (98,2)
Imipenem	180	–	1 (0,6)	179 (99,4)
Levofloxacino	71	3 (4,2)	1 (1,4)	67 (94,4)
Piperacilina-tazobactam	97	2 (2,1)	9 (9,3)	86 (88,6)
Tobramicina	98	2 (2,0)	2 (2,0)	94 (96,0)

<sup>a</sup>Los 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: 243 laboratorios (91,7%) afirmaron no haberlo utilizado, 12 centros (4,5%) declararon haberlo requerido, seis de ellos (2,3%) parcialmente; fueron 10 participantes (3,8%) los que no aportaron información al respecto.

### COMENTARIOS

De forma general, muchos participantes comentaron que se trataba de una bacteria para la que no existía un antibiograma estandarizado por el *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI), por lo que tuvieron que tomar como referencia de interpretación los puntos de corte existentes para los bacilos gramnegativos no fermentadores. También fue considerable el número de participantes que realizaron recomendaciones de tratamiento, indicando que la terapia podía ser con amoxicilina-clavulanato, uno de ellos precisando que todos los casos de la literatura tratados con este fármaco habían ido bien desde el punto de vista clínico, levofloxacino, imipenem, piperacilina-tazobactam o combinaciones de éstos, y durante un periodo de tiempo prolongado, aunque otros comentaron que no existían recomendaciones claras de tratamiento. Algunos centros comentan que obtuvieron resultados discrepantes en el antibiograma según el método empleado (CMI o disco-placa), uno informa que la respuesta clínica no tiene por qué coincidir con la sensibilidad *in vitro* de la cepa y otros destacaron la resistencia a algunas cefalosporinas que presentaba la cepa. En cuanto a la identificación, destacaron que la bacteria crecía en medio McConkey, presentaba resistencia a los macrólidos, la prueba de la ureasa rápida era positiva y la reducción de nitratos negativa; las dos primeras características permitían diferenciarla de otras especies del mismo género (*B. pertussis* y *B. parapertussis*). Algunos hicieron constar que era difícil de diferenciar esta bacteria de otros géneros como *Oligella*. Por último, otros comentaron que la bacteria remitida podía ser causa de neumonía en pacientes inmunodeprimidos, como en el caso que nos ocupaba.