

## CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-2/09)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Kingella kingae*, mediante pruebas convencionales y secuenciación. La historia clínica correspondía a una niña de 3 años de edad, sin factores de riesgo asociados, que fue atendida por una artritis de la rodilla derecha, sin traumatismo previo. Como único antecedente de interés, la madre refería que su hija había presentado, unos 5 días antes del comienzo del cuadro, una infección respiratoria de vías altas, acompañada de fiebre de 39°C. En la exploración se apreciaba un derrame articular con aumento del calor local, sin enrojecimiento, así como una limitación de la flexión. La proteína C reactiva fue de 19,5 mg/L, y la VSG en la primera hora, de 85 mm. El estudio microbiológico del líquido sinovial realizado a partir de una muestra introducida en un frasco de hemocultivo puso de manifiesto, a los 4 días de incubación, el crecimiento del microorganismo 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 identificar *Kingella* en la muestra problema, que se trata de un bacilo gramnegativo de crecimiento exigente.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa fue enviada a los 269 centros participantes, de los que 222 remitieron hoja de respuesta (82,5%). La mayoría de participantes (74,8%) identificaron correctamente el género y la especie, mientras que 7 (3,2%) informaron sólo el género (tabla 1). Seis participantes declararon no obtener crecimiento tras el subcultivo, presumiblemente por emplear condiciones que no permitían el crecimiento de esta bacteria.

Teniendo en cuenta el nivel de dificultad de este control, el Programa de CC SEIMC consideró como válida y suficiente la identificación de género *Kingella*, reservando para *K. kingae* la calificación de identificación óptima. Llama la atención que en este control se recibió un notable número de respuestas con una amplia miscelánea de identificaciones (en total se informaron 29 especies bacterianas), reflejo de la dificultad en sí, pero también de la incapacidad de los sistemas comerciales para identificar la cepa. Así, veintidós laboratorios informaron una única especie bacteriana que no informaron el resto de centros: *Aggregatibacter aphrophilus*, *Bacillus subtilis*, bacilo grampositivo diferomorfo, *Eikenella corrodens*, *Enterobacter cloacae*, estreptococo  $\beta$ -hemolítico, género *Bordetella*, género *Haemophilus*, género *Pediococcus*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella ornithinolytica*, *Moraxella catarrhalis*, *Moraxella lacunata*, *Neisseria lactamica*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella trehalosis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*.

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

Identificación	Número	%
<i>Kingella kingae</i>	166	74,8
<i>Pasteurella canis</i>	9	4,0
Género <i>Kingella</i>	7	3,2
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	3	1,3
Género <i>Pasteurella</i>	3	1,3
<i>Acinetobacter lowffii</i>	2	0,9
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	0,9
Miscelánea (ver texto)	22	9,9
No se obtiene crecimiento	6	2,7
No informa	2	0,9
Total	222	100,0

De los 216 laboratorios que obtuvieron crecimiento, algo más de la mitad de ellos (129, el 59,7%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa (tablas 2 y 3). Un total de 104 centros (48,1%) usaron técnicas manuales. Nueve participantes (4,2%) realizaron un estudio de secuenciación, lo que indica la dificultad que entrañaba la identificación de especie, así como la progresiva implantación de esta técnica en los laboratorios de microbiología.

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

Método	Número	%
Comercial	103	47,7
Manual	76	35,2
Manual + comercial	24	11,1
Manual + secuenciación	4	1,9
Secuenciación	3	1,3
Comercial + secuenciación <sup>a</sup>	2	0,9
No informa	4	1,9
Total	216	100,0

<sup>a</sup>Uno de ellos realizó, además, espectrometría.

Los equipos comerciales más empleados fueron el sistema Vitek/Vitek 2 (59 centros), seguidos de la galería API NH (21 centros) y API no especificado (13 centros). El rendimiento fue variable: algunos sistemas [Phoenix, Rapid NH (Remel), la galería API 20E, Rapid NF Plus y BBL Crystal] identificaron correctamente la cepa en todas las ocasiones, aunque fueron usados por muy pocos laboratorios, por lo que no se pueden extraer conclusiones fiables. En cuanto al sistema Vitek, 44 de los 59 participantes que realizaron este método identificaron correctamente, al menos, el género de la cepa control. El sistema Microscan se reveló insuficiente para alcanzar la identificación, pues sólo 5 de 9 participantes (55,6%) remitieron la respuesta aceptable. Ninguno de los dos participantes que emplearon Wider identificó correctamente la bacteria.

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

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Galerías API			
API NH	21	16,3	80,9
API no especificado	13	10,1	84,6
API 20NE	7	5,4	42,8
API 20E	2	1,5	100,0
API Coryne	1	0,8	100,0
Vitek/Vitek 2	59	45,7	74,6
Microscan	9	7,0	55,6
Phoenix	5	3,9	100,0
Rapid NH (Remel)	4	3,1	100,0
Wider	2	1,5	0,0
Rapid NF Plus	1	0,8	100,0
BBL Crystal	1	0,8	100,0
Sensititre	1	0,8	0,0
No especifica el sistema utilizado	3	2,3	66,7
Total	129	100,0	69,6

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

### GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta únicamente a los 173 centros que realizaron una identificación mínima de género *Kingella*. De ellos, 14 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 159 antibiogramas. Un total de 128 (80,5%) realizaron una técnica disco-placa, 110 de ellos (69,2%) de forma única. El número de participantes que determinaron la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 25 (15,7%), 19 de forma aislada. De los 25 centros que determinaron la CMI mediante un sistema automatizado, 8 de ellos usaron Wider (32,0%), otros 7 participantes Sensititre (28,0%), 5 laboratorios Microscan (20,0%), 3 Vitek (12,0%) y, por último, un centro Phoenix (4,0%). Los resultados se resumen en la tabla 4.

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

Método	Número	%
Disco-placa	110	69,2
CMI por microdilución	19	11,9
Disco-placa + E-test®	12	7,5
E-test®	9	5,7
CMI + disco-placa	6	3,8
No especificado	3	1,9
Total	159	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia (tabla 5) fueron obtenidos por disco-placa y E-test®, y se muestran en la tabla 5. 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 "fastidiosos" para la interpretación de los resultados

**Tabla 5. Sensibilidad antibiótica de la cepa.**

Antibiótico	Interpretación	Antibiótico	Interpretación	Antibiótico	Interpretación
Penicilina	S	Meropenema	S	Gentamicina	S
Ampicilina	S	Eritromicina	S	Tobramicina	S
Amoxicilina-clavulanato	S	Claritromicina	S	Ciprofloxacino	S
Cefuroxima	S	Azitromicina	S	Cotrimoxazol	S
Cefotaxima	S	Clindamicina	R	Rifampicina	S
Imipenema	S	Cloranfenicol	S	Vancomicina	R

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia una lista de los antibióticos que consideraran que debían 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 6.

**Tabla 6. Antibiograma ideal según tres profesionales.**

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Penicilina	Penicilina	
Ampicilina	Ampicilina	Ampicilina
Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato
Cefotaxima/ceftriaxona	Cefotaxima/ceftriaxona	Ceftriaxona/ceftriaxona
Imipenema/meropenema	Imipenema/meropenema	
Eritromicina		Eritromicina
Azitromicina/Claritromicina	Azitromicina/Claritromicina	
	Gentamicina	
Clindamicina	Clindamicina	Clindamicina
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Ciprofloxacino
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol
Rifampicina	Rifampicina	
	Vancomicina	

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 12 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: penicilina, ampicilina, amoxicilina-clavulanato, cefotaxima/ceftriaxona, imipenema/meropenema, eritromicina, azitromicina/claritromicina, clindamicina, ciprofloxacino, cotrimoxazol y rifampicina.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla 7 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue igual o superior a 25. De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia para todos los antibióticos, observándose cierta discrepancia con la clindamicina.

**Tabla 7. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Número	Interpretación <sup>a</sup>		
		Sensible	Intermedio	Resistente
Penicilina	89	87 (97,8)	0	2 (2,2)
Ampicilina	89	89 (100,0)	0	0
Amoxicilina-clavulanato	82	82 (100,0)	0	0
Cefuroxima	46	46 (100,0)	0	0
Cefotaxima	117	117 (100,0)	0	0
Imipenema	28	28 (100,0)	0	0
Ciprofloxacino	97	97 (100,0)	0	0
Cotrimoxazol	116	115 (99,1)	0	1 (0,9)
Eritromicina	59	59 (100,0)	0	0
Clindamicina	28	4 (14,3)	1 (3,6)	23 (82,1)
Gentamicina	90	88 (97,8)	1 (1,1)	1 (1,1)
Tetraciclina	26	24 (92,4)	1 (3,8)	1 (3,8)
Vancomicina	29	0	0	29 (100,0)

<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: 202 laboratorios (91,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 8 centros (3,6%) declararon haberlo requerido y 6 centros (2,7%) lo utilizaron parcialmente. Hubo 6 participantes (2,7%) que no aportaron información al respecto. En resumen, los laboratorios participantes en el Programa de CC SEIMC demuestran

poseer una suficiente capacitación técnica para identificar la cepa

## COMENTARIOS

Algunos laboratorios señalaron explícitamente que la cepa no era productora de  $\beta$ -lactamasa (n=15). Otros comentarios mayoritarios se refirieron a recomendaciones terapéuticas, principalmente con la penicilina, amoxicilina o cefalosporinas de tercera generación, asociadas o no con la gentamicina, por la posibilidad de una endocarditis no sospechada inicialmente (n=8). Un comentario técnico frecuente fue acerca de la inexistencia de puntos de corte estandarizados para la interpretación del antibiograma (n=6). Por último, 2 participantes comentan, acertadamente, que no debiera informarse la sensibilidad al ciprofloxacino, por tratarse de una niña de 3 años.

Once participantes indicaron las pruebas bioquímicas manuales que habían realizado para lograr la identificación. Tres centros recomiendan confirmar la identificación con métodos moleculares. Por último, otros 3 centros señalan que la inoculación del líquido articular en frascos de hemocultivo mejora la sensibilidad diagnóstica.

El porcentaje de acierto de este control ha sido del 78,0%, muy similar al del último control, otro bacilo gramnegativo de crecimiento exigente, en el que un 76,4% de los participantes al mismo encuadraron la cepa dentro del género *Capnocytophaga*. Estos porcentajes de acierto se pueden considerar aceptables, aunque claramente mejorables, más aún teniendo en cuenta que una parte no despreciable de fallos fue atribuible a las insuficiencias de los sistemas comerciales de identificación. La realización inicial de pruebas microbiológicas sencillas (tinción de Gram, etc.), junto con el cuadro clínico de la paciente, permitían orientar la identificación de la cepa y hubieran evitado algunos errores de bulto. En este sentido, una lección evidente de este control es que no conviene confiar en exceso en los sistemas comerciales, y que el buen criterio profesional del microbiólogo debe guiar siempre la resolución de los problemas analíticos.