

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-3/10)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Pasteurella multocida*. La historia clínica correspondía a una mujer de 79 años de edad, que vivía en un ambiente rural, rodeada de animales domésticos y que presentaba como antecedentes clínicos de interés una historia de hipertensión arterial y de osteoporosis en tratamiento por su médico de familia. La paciente fue llevada a urgencias por un cuadro confusional agudo de 12 horas de evolución, acompañado de fiebre de 39,4°C y escalofríos. En el momento de la consulta, se encontraba taquipnéica, desorientada y con mal estado general. En la exploración física se apreciaba, en el miembro inferior derecho, un área extensa de enrojecimiento, edema y calor local, y en ambas extremidades múltiples erosiones secundarias a arañazos. No presentaba clínica sugestiva de otro foco infeccioso. A las pocas horas de su llegada, la paciente sufría un grave deterioro clínico con hipotensión severa que determinó su ingreso en UCI por *shock séptico*. Se tomaron muestras de sangre para hemocultivos que fueron remitidas al Servicio de Microbiología, creciendo a las 48 horas la bacteria objeto de este control. Inicialmente la paciente recibía antibioterapia con imipenem seguido de amoxicilina-clavulánico, quedando apirética en 72 horas.

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.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 260 centros participantes, de los que 233 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 89,6%, similar al del último control (90,8%). La mayoría de los participantes identificaron correctamente el género y la especie (93,6%), mientras que 5 centros informaron solamente el género (2,1%). El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró aceptable la identificación mínima de género *Pasteurella* y óptima la de género y especie *P. multocida*. Así, el porcentaje de acierto global fue del 95,7%. Tres centros informaron *Yersinia enterocolitica*, probablemente debido a errores de transcripción, a partir de resultados de otros controles distintos a éste (errores "postanalíticos"). Por último, un laboratorio no informó del resultado obtenido debido a que no llegó a una identificación que le pareciera correcta. La totalidad de las identificaciones informadas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Pasteurella multocida</i>	218	93,6
Género <i>Pasteurella</i>	5	2,1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	3	1,3
<i>Clostridium perfringens</i>	2	0,9
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	2	0,9
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1	0,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0,4
No informa	1	0,4
Total	233	100,0

En este control, la gran mayoría de los centros (225, el 96,6%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 173 (74,2%) las usaron como único método (tabla 2). Las pruebas manuales fueron informadas por 54 laboratorios (el 23,2%), la mayoría de ellas utilizadas en combinación con otro método. Respecto a la espectrometría de masas, fue utilizada por 6 centros (2,6%), lo que muestra la implantación progresiva de esta técnica entre nuestros laboratorios. Por último, 4 laboratorios (1,7%) realizaron, junto con otro método comercial, un estudio de secuenciación para obtener la identificación de la cepa.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	173	74,2
Manual + Comercial	48	20,6
Manual	3	1,3
Comercial + Secuenciación + Espectrometría de masas	3	1,3
Espectrometría de masas	2	0,9
Manual + PCR	2	0,9
Comercial + Secuenciación	1	0,4
Manual + Espectrometría de masas	1	0,4
Total	233	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron el equipo Vitek/Vitek 2 (74 centros) y las galerías bioquímicas API (66 centros, agrupando el API 20NE, el API 20E, el API NH y el API 10S), seguidas de los sistemas Microscan (49 centros) y Wider (23 centros). Los mejores resultados se obtuvieron con los

sistemas MALDI-TOF, Phoenix, Rapid NF Plus, API 10S, BBL Crystal, Sensititre (100% de aciertos, si bien todos ellos fueron usados por muy pocos centros, por lo que debe interpretarse con cautela); seguidos del API 20E (96,4%), Vitek/Vitek 2 (95,9%), Microscan (95,0%), API 20NE (94,0%), y Wider (87,0%).

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial ^a	Número	% uso	% acierto
Vitek/Vitek 2	74	32,5	95,9
Microscan	49	21,5	95,0
Galerías API			
API 20NE	33	14,5	94,0
API 20E	28	12,3	96,4
API NH	2	0,9	0,0
API 10S	1	0,4	100,0
API no especificado	2	0,9	100,0
Wider	23	10,1	87,0
MALDI-TOF	6	2,6	100,0
Phoenix	5	2,2	100,0
Rapid NF PLUS (Remel)	3	1,3	100,0
BBL Crystal	1	0,4	100,0
Sensititre	1	0,4	100,0
Total	228	100,0	94,3

^aEmpleados solos ó combinados con otras pruebas.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 223 centros que realizaron una identificación mínima de género *Pasteurella*. De ellos, solamente siete no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 216 estudios de sensibilidad.

El número de participantes que determinó la CMI mediante técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 123 (56,9%), empleándose como método único en el 41,2% de los casos. Fueron 115 (53,2%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 77 (35,6%) lo hicieron de forma exclusiva. Las tiras de E-test fueron utilizadas por 22 de los centros (10,2%), en cinco de ellos (2,3%) como única técnica. Por último, un participante empleó concentración crítica (0,5%), mientras que otro no especificó el método empleado (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
CMI por microdilución	89	41,2
Disco-placa	77	35,6
CMI + disco-placa	26	12,0
Disco-placa + E-test®	9	4,2
E-test®	5	2,3
CMI + E-test®	5	2,3
CMI + disco-placa + E-test®	3	1,4
Concentración crítica	1	0,5
No especificado	1	0,5
Total	216	100,0

Sobre un total de 124 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Vitek/Vitek 2 (37,1%), Wider (29,0%) y Microscan (21,0%), seguidos del Sensititre (6,5%) y Phoenix (1,6%). Los datos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Vitek/Vitek 2	46	37,1
Wider	36	29,0
Microscan	26	21,0
Sensititre	8	6,5
Phoenix	2	1,6
API ATB	1	0,8
Preparación propia	1	0,8
No específica	4	3,2

Total 124 100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia fueron obtenidos mediante difusión en disco-placa y 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 correspondientes al grupo de microorganismos "fastidiosos" para la interpretación de los resultados.

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

Antibiótico	Interpretación ^a
Penicilina	S
Ampicilina/amoxicilina	S
Amoxicilina-clavulanato	S
Cefotaxima	S
Imipenem	S
Claritromicina	S
Cotrimoxazol	S
Ciprofloxacino	S
Doxiciclina	S

^aS: sensible.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia un listado de los antibióticos que a su criterio deberían ser incluidos en el estudio de sensibilidad de esta bacteria (tabla 7), sirviendo éstos 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 al caso clínico concreto es un criterio añadido de verdadera calidad en Microbiología Clínica. 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.

Tabla 7. Antibiograma ideal según tres profesionales.

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Penicilina	Penicilina	
Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina
Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato
Cefotaxima	Cefotaxima	Cefotaxima
		Imipenem
Doxiciclina	Doxiciclina	Doxiciclina
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Levofloxacino

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 18 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.

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 35. En total, se han recibido resultados correspondientes a 53 antibióticos diferentes.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia (penicilina, ampicilina, amoxicilina-clavulanato, cefotaxima, imipenem, cotrimoxazol, ciprofloxacino, levofloxacino, tetraciclina). Los únicos resultados discrepantes se han observado con la gentamicina (no informada por el centro de referencia) debido a que aunque *in vitro* fuera sensible *P. multocida* se tendría que informar como resistente a los aminoglicósidos.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Penicilina	85	83 (97,6)	0	2 (2,4)	0
Ampicilina/amoxicilina	123	121 (98,4)	0	2 (1,6)	0
Amoxicilina-clavulanato	170	170 (100,0)	0	0	0
Cotrimoxazol	145	142 (97,9)	0	3 (2,1)	0

Cefuroxima	55	54 (98,2)	0	0	1 (1,8)
Cefotaxima	159	159 (100,0)	0	0	0
Imipenem	61	61 (100,0)	0	0	0
Ciprofloxacino	150	150 (100,0)	0	0	0
Levofloxacino	59	58 (98,3)	0	1 (1,7)	0
Gentamicina	59	42 (71,2)	1 (1,7)	16 (27,1)	0
Tetraciclina	48	48 (100,0)	0	0	0

^aLos 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: 225 laboratorios (96,6%) afirmaron no haberlo utilizado, 7 centros (3,0%) declararon haberlo requerido y 1 centro (0,4%) lo utilizó parcialmente.

COMENTARIOS

El comentario mayoritario ha sido que la cepa no era productora de β -lactamasa (16 centros). En contraposición, tres laboratorios señalaron que dicha cepa sí que era β -lactamasa positiva.

Otros comentarios trataron sobre las recomendaciones terapéuticas (16), principalmente con penicilina ó amoxicilina-clavulanato. Seis centros explicaron que la cepa se había adquirido a través de la mordedura o arañazo del gato. Por último, cuatro participantes señalaron que *P. multocida* se debe informar como resistente a los aminoglucósidos, independientemente de la sensibilidad obtenida *in vitro*.