

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-1/11)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Listeria innocua*. La historia clínica correspondía a un paciente varón de 48 años de edad en tratamiento quimioterápico por linfoma de Hodgking. Acudió a urgencias médicas por presentar un cuadro febril de dos días de evolución, con discreto deterioro de su estado general sin otra sintomatología acompañante, lo que determinó su ingreso en planta. Entre otras muestras se extrajeron hemocultivos seriados, que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y micológico, y posteriormente se pautó tratamiento antibiótico empírico. Al cabo de 16 horas de incubación se obtuvo, a partir de las dos parejas de hemocultivos remitidas, el crecimiento de la bacteria que es objeto de este control.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el estudio de **sensibilidad** de la cepa remitida. Así mismo, podían hacerse 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 *L. innocua* y diferenciarlo de los aislados de *Listeria monocytogenes* (principalmente, las colonias de *L. innocua* no son hemolíticas y la prueba de CAMP es negativa, a diferencia de las colonias de *L. monocytogenes* que son hemolíticas y con la prueba de CAMP positiva).

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 253 centros participantes, de los que 236 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 93,3%, casi idéntico al del último control (93,1%). Solamente 78 centros (el 33,1% de los participantes) identificaron correctamente el género y la especie, mientras que 148 centros (el 62,7%) informaron *Listeria monocytogenes*. Un centro (0,4%) respondió *Listeria grayi* y otro laboratorio (0,4%) informó únicamente del género. El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró aceptable la identificación mínima de género *Listeria*, y óptima la de género y especie *L. innocua*. La totalidad de las identificaciones informadas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Listeria innocua</i>	78	33,1
<i>Listeria monocytogenes</i>	148	62,7
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	3	1,4
<i>Listeria grayi</i>	1	0,4
<i>Clostridium ramosum</i>	1	0,4
<i>Enterococcus durans</i>	1	0,4
Género <i>Listeria</i>	1	0,4
<i>Lactococcus lactis</i>	1	0,4
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	0,4
<i>Streptococcus anginosus</i>	1	0,4
Total	236	100,0

En este control, la gran mayoría de los centros (227, el 96,2%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 144 (61,0%) las usaron como único método (tabla 2). Las pruebas manuales (principalmente la prueba de CAMP y la observación de la hemólisis en agar sangre) fueron informadas por 66 laboratorios (el 28,0%), la inmensa mayoría combinadas con los métodos comerciales. La prueba de aglutinación frente a antígenos somáticos y/o flagelares de *Listeria* (serotipado) fue utilizada por 22 participantes (el 9,3%). Por último, 7 laboratorios (3,0%) realizaron un estudio de secuenciación y 6 (2,5%) utilizaron la espectrometría de masas.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	144	61,0
Manual + Comercial	57	24,1
Comercial + Aglutinación	15	6,4
Manual + Comercial + Aglutinación	6	2,5
Comercial + Secuenciación + Espectrometría de masas	3	1,2
Comercial + Secuenciación	2	0,9
Espectrometría de masas	2	0,9
Manual	2	0,9
Espectrometría de masas + aglutinación	1	0,4
Manual + Secuenciación	1	0,4
Secuenciación	1	0,4
No informa	2	0,9
Total	236	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron las galerías bioquímicas API, empleadas por 68 centros (agrupando el API Coryne, el API Listeria, el API 20 Strep, el rapid ID 32

Strep y el API 20 E). Le siguen en frecuencia los sistemas Vitek 2 (65 centros), Microscan (58 centros) y Wider (24 centros). Los mejores resultados para la identificación óptima de especie *L. innocua* se obtuvieron con los equipos API Listeria (72,7% de aciertos) y MALDI-TOF (66,7% de aciertos), seguidos del Vitek 2 (49,2% de aciertos) y API Coryne (40,0%). Estos porcentajes bajos en la identificación de especie se debe a que muchos sistemas comerciales no son capaces de diferenciar *L. innocua* de *L. monocytogenes*, por lo que se debería complementar con pruebas manuales (prueba de CAMP negativa y ausencia de hemólisis en aislados de *L. innocua*).

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial ^a	Número	% uso	% acierto
Galerías API			
API Coryne	50	21,7	40,0
API Listeria	11	4,8	72,7
API Strep ^b	5	2,2	0,0
API 20 E	2	0,9	0,0
Vitek 2	65	28,3	49,2
Microscan	58	25,2	12,1
Wider	24	10,4	0,0
MALDI-TOF	6	2,6	66,7
Phoenix	3	1,3	0,0
Sensititre	2	0,9	50,0
BBL Crystal	1	0,4	0,0
RapID CB Plus (Remel)	1	0,4	0,0
No específica	2	0,9	100,0
Total	230	100,0	30,4

^aEmpleados solos ó combinados con otras pruebas.

^bSe incluyen tanto el API 20 Strep como el rapid ID 32 Strep.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 227 centros que realizaron una identificación mínima de género *Listeria*. De ellos, solamente 14 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 213 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 131 (61,5%), empleándose como método único en el 49,3% de los casos. Fueron 94 (44,1%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 64 (30,0%) lo hicieron de forma exclusiva. Las tiras de E-test fueron utilizadas por 22 de los centros (10,3%), en nueve de ellos (4,2%) como única técnica. Por último, dos participantes (1,0%) emplearon concentración crítica (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
CMI por microdilución	105	49,3
Disco-placa	64	30,0
CMI + disco-placa	20	9,4
E-test®	9	4,2
Disco-placa + E-test®	7	3,3
CMI + E-test®	4	1,9
CMI + disco-placa + E-test®	2	0,9
Concentración crítica	1	0,5
Concentración crítica + disco-placa	1	0,5
Total	213	100,0

Sobre un total de 133 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (50,4%), Wider (27,8%), Sensititre (8,3%) y Vitek 2 (7,5%). Los datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Microscan	67	50,4
Wider	37	27,8
Sensititre	11	8,3
Vitek 2	10	7,5
Phoenix	2	1,5
ATB Enterococ	1	0,7
Preparación propia	2	1,5
No específica	3	2,3
Total	133	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 (Microscan) 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 *Listeria* para la interpretación de los resultados.

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

Antibiótico	Interpretación ^a
Ampicilina	S
Cefotaxima	R
Eritromicina	S
Gentamicina	S
Levofloxacino	S
Cotrimoxazol	S
Vancomicina	S

^aS: sensible; R: resistente.

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
Ampicilina	Ampicilina	Ampicilina
		Cefotaxima
Eritromicina	Eritromicina	Eritromicina
Gentamicina	Gentamicina	Gentamicina
Levofloxacino		Ciprofloxacino
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol
	Vancomicina	
		Rifampicina

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 17 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 30. En total, se han recibido resultados correspondientes a 42 antibióticos diferentes.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia (ampicilina, cefotaxima, eritromicina, gentamicina, levofloxacino, cotrimoxazol, vancomicina).

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Ampicilina	192	190 (99,0)	0	2 (1,0)	0
Penicilina	81	78 (96,4)	1 (1,2)	1 (1,2)	1 (1,2)
Amoxicilina-clavulanato	31	31 (100,0)	0	0	0
Cefotaxima	31	5 (16,1)	0	26 (83,9)	0
Cotrimoxazol	156	149 (95,5)	1 (0,6)	4 (2,6)	2 (1,3)
Eritromicina	62	59 (95,2)	1 (1,6)	1 (1,6)	1 (1,6)
Gentamicina	138	130 (94,2)	1 (0,7)	1 (0,7)	6 (4,4)
Ciprofloxacino	33	28 (84,8)	3 (9,1)	2 (6,1)	0
Levofloxacino	54	51 (94,5)	1 (1,8)	0	2 (3,7)
Vancomicina	94	87 (92,5)	0	3 (3,2)	4 (4,3)
Rifampicina	70	67 (95,7)	0	0	3 (4,3)
Tetraciclina	33	31 (94,0)	0	1 (3,0)	1 (3,0)

^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: 223 laboratorios (94,5%) afirmaron no haberlo utilizado, 10 centros (4,3%) declararon haberlo requerido, 2 centros (0,8%) lo utilizaron parcialmente, mientras que otros 1 participante (0,4%) no informó de esta premisa.

COMENTARIOS

El comentario mayoritario fue que la cepa de *Listeria* remitida carecía de β -hemólisis en agar sangre y que la prueba de CAMP era negativa (43 centros), con lo que diferencia *L. innocua* de *L. monocytogenes*, y que la gran mayoría de sistemas comerciales no son capaces de diferenciar ambas bacterias.

Otros comentarios trataron sobre las recomendaciones terapéuticas (24), principalmente con ampicilina asociada a gentamicina, o bien con cotrimoxazol como alternativa. Diez participantes que realizaron aglutinación afirmaron que la cepa control era *L. monocytogenes* de serotipo 4. Por último, cinco centros manifestaron que, si bien *L. innocua* es una bacteria generalmente no patógena, sí debe tenerse en cuenta en pacientes inmunodeprimidos, como el de este caso.