

## CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-1/12)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Salmonella enterica* serotipo Blockley (grupo C2). La historia clínica correspondía a un varón de 51 años de edad y una mujer de 49 años, casados, sin antecedentes patológicos de interés en ninguno de los dos casos, que acudieron al Servicio de Urgencias por haber presentado un cuadro de 24 horas de evolución con diarrea abundante (10-15 deposiciones que habían llegado a ser sanguinolentas en 24 horas), vómitos, dolor abdominal de tipo cólico y fiebre de 38°C. Relataban que en la noche anterior habían tomado durante la cena pavo relleno. En la exploración, el marido presentaba sequedad de piel y mucosas, y ambos describían un dolor difuso y de intensidad moderada a la palpación abdominal. Ante la sospecha de gastroenteritis invasiva, se remitieron muestras de heces para coprocultivo al Servicio de Microbiología, aislándose a las 24 horas la bacteria que constituyó el 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 el patrón de sensibilidad de la cepa, ya que se trataba de una *S. enterica* serotipo Blockley productora de una  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE) y resistente al ácido nalidíxico, aislada en varios coprocultivos de procedencia comunitaria.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 253 centros participantes, de los que remitieron hoja de respuesta 240, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 94,9%, superior al último control de Bacteriología (88,9%), y también superior al control B-2/08, en el que se remitió una cepa de *S. enterica* de similares características (la participación en dicho control fue entonces del 89,7%). El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró aceptable la identificación mínima de género *Salmonella*, y óptima la de género y especie *S. enterica*. La gran mayoría de los participantes (222, el 92,5%) identificaron correctamente el género y la especie de la cepa, mientras que 16 laboratorios (6,6%) informaron únicamente el género. La mayor discrepancia correspondió a dos centros (0,9%) que identificaron la cepa control como *Staphylococcus aureus*, este error podría deberse a un problema de transcripción de datos o de etiquetado de la muestra, confundiéndose con la cepa del control de bacteriología mensual BX-marzo-12 que se trataba realmente de un *S. aureus* (tabla 1). Desde el programa de control de calidad SEIMC se recuerda a los centros participantes que los errores detectados en los controles no solo pueden deberse a la fase analítica, sino que también comprenden las fases pre y postanalíticas.

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

Identificación	Número	%
<i>Salmonella enterica</i> grupo C	101	42,1
<i>Salmonella enterica</i>	91	38,0
Género <i>Salmonella</i>	16	6,6
<i>Salmonella enterica</i> grupo B	15	6,2
<i>Salmonella</i> Enteritidis	15	6,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	0,9
Total	240	100,0

La gran mayoría de los centros (222, el 92,5%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa (tabla 2), de los que 51 (21,3%) se hicieron como método único. Asimismo, más de la mitad de los participantes (181, el 75,4%) realizaron pruebas de aglutinación frente a algunos serogrupos o serotipos de *Salmonella*, de los que 146 (60,8%) las utilizaron junto a un sistema comercial. En este control, las pruebas manuales solamente fueron informadas por 26 laboratorios (el 10,9%), en todos los casos utilizadas en combinación con un método comercial o con la aglutinación. La espectrometría de masas fue realizada por 8 centros (3,3%), todos ellos junto con la aglutinación de *Salmonella*. Por último, únicamente 3 centros realizaron un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa.

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

Método	Número	%
Comercial + aglutinación	146	60,8
Comercial	51	21,3
Manual + comercial + aglutinación	18	7,5
Espectrometría de masas + aglutinación	8	3,3
Manual + aglutinación	4	1,7
Manual + comercial	4	1,7
Agglutinación	3	1,3
Secuenciación	2	0,8
Comercial + aglutinación + inmunocromatografía	1	0,4
Comercial + aglutinación + PCR	1	0,4
Comercial + secuenciación	1	0,4
No informa	1	0,4
Total	240	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron el Microscan (93 centros), seguido del Vitek 2 (78 centros), Wider (26 centros) y las galerías API (20 centros). Todos los equipos identificaron correctamente el género y la especie de la cepa o, al menos, la encuadraron dentro del género.

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

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Microscan	93	41,9	97,8
Vitek 2	78	35,1	100,0
Wider	26	11,7	100,0
Galerías API			
API 20 E	17	7,6	100,0
API 10 S	2	0,9	100,0
ID 32 E	1	0,5	100,0
Phoenix	3	1,3	100,0
BBL Crystal	1	0,5	100,0
Sensititre	1	0,5	100,0
Total	222	100,0	99,5

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

### GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 238 centros que realizaron una identificación mínima de género *Salmonella*. De ellos, solamente 4 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 234 antibiogramas.

El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 199 (85,0%), empleándose como método único en el 64,1% de los casos. Fueron 79 (33,8%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 29 (12,4%) lo hicieron de forma única. Se realizó E-test® en 13 laboratorios (5,6%), siempre en combinación con otros métodos. Por último, un participante (0,4%) no especificó el método empleado (tabla 4).

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

Método	Número	%
CMI por microdilución	150	64,1
CMI + disco-placa	41	17,5
Disco-placa	29	12,4
Disco-placa + E-test®	5	2,2
CMI + E-test®	4	1,7
CMI + disco-placa + E-test®	4	1,7
No especificado	1	0,4
Total	234	100,0

Sobre un total de 199 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Microscan (47,7%), seguidos del Vitek 2 (35,2%) y del Wider (14,1%). Los datos se resumen en la tabla 5.

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

Marca	Número	%
Microscan	95	47,7
Vitek 2	70	35,2
Wider	28	14,1
Phoenix	3	1,5
Sensititre	3	1,5
Total	199	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 a la familia *Enterobacteriaceae* para la interpretación de los resultados. La presencia de BLEE fue confirmada mediante la CMI diferencial de la cefotaxima y ceftazidima solas y combinadas con el ácido clavulánico; y con la prueba de la doble difusión utilizando discos de cefotaxima, ceftazidima, aztreonam y cefepima.

**Tabla 6. Sensibilidad antibiótica de la cepa.**

Antibiótico	Interpretación <sup>a</sup>
Ampicilina/amoxicilina	R
Amoxicilina-clavulanato	S
Piperacilina-tazobactam	S
Cefuroxima	R
Cefoxitina	S
Cefotaxima/ceftriaxona	R
Ceftazidima	R
Aztreonam	R
Imipenem	S
Ertapenem	S
Ácido nalidíxico	R
Ciprofloxacino	I
Levofloxacino	I
Cotrimoxazol	S
Doxiciclina	S
Tigeciclina	S

<sup>a</sup>R: resistente; S: sensible; I: intermedio.

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia un listado de los antibióticos que consideraran deberían ser incluidos en el estudio de sensibilidad de esta bacteria (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 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.

**Tabla 7. Antibiograma ideal según tres profesionales.**

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina	Ampicilina/amoxicilina
Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato	Amoxicilina-clavulanato
Cefotaxima/ceftriaxona	Cefotaxima/ceftriaxona	Cefotaxima/ceftriaxona
Cotrimoxazol	Cotrimoxazol	Cotrimoxazol
Ácido nalidíxico	Ácido nalidíxico	Ácido nalidíxico
Ciprofloxacino	Ciprofloxacino	Ciprofloxacino
Doxiciclina		
		Imipenem

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 16 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 41 antibióticos diferentes.

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

Antibiótico	Número	Interpretación <sup>a</sup>			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Ampicilina/amoxicilina	217	1 (0,4)	-	216 (99,6)	-
Amoxicilina-clavulanato	167	142 (85,0)	6 (3,6)	17 (10,2)	2 (1,2)
Piperacilina-tazobactam	31	30 (96,8)	1 (3,2)	0	-
Cefuroxima	60	-	-	60 (100,0)	-
Cefoxitina	40	20 (50,0)	-	17 (42,5)	3 (7,5)
Cefotaxima	173	4 (2,3)	4 (2,3)	165 (95,4)	-
Ceftazidima	70	-	-	70 (100,0)	-
Cefepima	66	17 (25,7)	5 (7,6)	44 (66,7)	-
Aztreonam	32	-	-	32 (100,0)	-
Imipenem	88	88 (100,0)	-	-	-
Ertapenem	39	39 (100,0)	-	-	-

Ácido nalidíxico	90	-	-	90 (100)	-
Ciprofloxacino	223	140 (62,8)	40 (18,0)	42 (18,8)	1 (0,4)
Cotrimoxazol	200	193 (96,5)	-	7 (3,5)	-
Gentamicina	38	18 (47,4)	-	18 (47,4)	2 (5,2)

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia para los antibióticos ampicilina/amoxicilina, piperacilina-tazobactam, cefuroxima, cefotaxima, ceftazidima, imipenem, ertapenem, ácido nalidíxico y cotrimoxazol. Sin embargo, conviene resaltar algunas discrepancias, sobre todo las que afectan a la interpretación del fenotipo de resistencia.

Así, respecto a la cefepima, un 25,7% de participantes catalogaron la cepa como sensible a este antibiótico y otro 7,6% la informaron con sensibilidad intermedia. Ello se debe a dos razones. La primera es que se ha constatado en este control una diferencia entre el valor de la CMI obtenido para la cefepima entre los centros que han realizado el Vitek 2 (la mayoría con valores de CMI  $\leq 1$   $\mu\text{g/ml}$ ) frente a los que utilizaron el Microscan y Wider (la mayoría con valores de CMI entre 8 y  $>16$   $\mu\text{g/ml}$ ). Por otra parte, en los centros que han obtenido un valor bajo de la CMI a este antibiótico, algunos han interpretado la sensibilidad para la cefepima estrictamente según el valor de la CMI obtenido, siguiendo las recomendaciones del CLSI y EUCAST, mientras que otros, han preferido, en las bacterias portadoras de BLEE, informar siempre este antibiótico como "Resistente", con independencia de la CMI o del diámetro del halo obtenidos. Por otra parte, cerca del 15% de las respuestas indicaron que la cepa no era sensible a la combinación amoxicilina-clavulanato, probablemente por el papel controvertido de este antimicrobiano en el tratamiento de las infecciones por enterobacterias portadoras de BLEE.

Todos los participantes que han informado el ácido nalidíxico coinciden con la interpretación de "Resistente". Sin embargo, a pesar de ello, un 43,7% de éstos (y un 62,8% del total de centros) informan el ciprofloxacino como "Sensible", aunque según las recomendaciones de los expertos consultados debería cambiarse esta interpretación a "Intermedio" o "Resistente". En ocasiones, algunos de los que informan "Sensible" comentan la posibilidad de que se produzca un fallo terapéutico con las fluoroquinolonas. Lógicamente, los participantes que han utilizado un panel de CMI que no incluye el ácido nalidíxico y los que han realizado el estudio de sensibilidad por disco-placa sin haber utilizado un disco de ácido nalidíxico, informan erróneamente que la cepa es sensible al ciprofloxacino y a otras fluoroquinolonas, sin matizaciones. En sentido contrario, un 18,8% de los participantes han informado directamente el ciprofloxacino como "Resistente", por el riesgo de desarrollo de futuras mutaciones de resistencia.

Los resultados discrepantes observados con la gentamicina (47,4%), se debieron a que, si bien la cepa era sensible *in vitro* a este antibiótico, se recomienda informar el género *Salmonella* como resistente a los aminoglucósidos.

Un 42,5% de los participantes informaron la cefoxitina como "Resistente", a pesar de haber obtenido un valor de la CMI  $\leq 4$   $\mu\text{g/ml}$ . Ello probablemente se debe al peligro de desarrollar resistencia con el tratamiento con cefoxitina en las cepas productoras de BLEE.

## DETECCIÓN DEL FENOTIPO DE RESISTENCIA

Como ya se ha indicado, el objetivo principal de este control fue comprobar si los participantes eran capaces de detectar que la cepa, aislada en un contexto de una gastroenteritis adquirida en la comunidad, era productora de BLEE, y evaluar la interpretación del fenotipo de resistencia resultante (resistencia a la ampicilina, cefalosporinas y al aztreonam; sensibilidad a las combinaciones con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas y a las carbapenemas); además de detectar la resistencia al ácido nalidíxico y sus consecuencias sobre la sensibilidad a otras quinolonas. Los resultados pueden ser considerados como satisfactorios, si bien todavía hay margen para la mejora. Así, en este control, un 70,2% de los participantes han indicado de forma explícita la producción de BLEE en la cepa remitida. Este porcentaje es casi idéntico al control B-2/08, en el que, como ya se ha comentado antes, también se remitió una cepa de *S. enterica* productora de BLEE (entonces un 69,0% comentaron explícitamente la producción de BLEE). Sin embargo, en el control mensual de agosto 2011 (una cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE), un 89% de los laboratorios informaron explícitamente esta característica. Ello sugiere que la producción de BLEE en el género *Salmonella* es sospechada con menos frecuencia que en *Escherichia coli* o *K. pneumoniae*. Los resultados se resumen en la tabla 9.

**Tabla 9. Resultados de la detección de la producción de BLEE y resistencia al ácido nalidíxico.**

Característica especial	Número	%
Cepa productora de BLEE y resistente al ácido nalidíxico	91	38,3
Cepa productora de BLEE, sin resultados ni comentarios acerca del ácido nalidíxico	76	31,9
Cepa productora de BLEE (implícito en el antibiograma), y resistente al ácido nalidíxico	2	0,8
Cepa productora de BLEE (implícito en el antibiograma), sin resultados ni comentarios acerca del ácido nalidíxico	3	1,3
Resistente al ácido nalidíxico	19	8,0
Ambas características no detectadas	47	19,7
Total	238	100,0

## 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: 222 laboratorios (92,5%) afirmaron no haberlo utilizado, 6 centros (2,5%) declararon haberlo requerido y 12 centros (5,0%) lo utilizaron parcialmente.

## COMENTARIOS

Como se ha señalado anteriormente, muchos participantes (167 centros) comentaron que se trataba de una bacteria productora de BLEE. Muchos de ellos, además, añadieron que era resistente al ácido nalidíxico. Otros comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas, principalmente el desaconsejar la utilización de quinolonas para los pacientes, por el riesgo a desarrollar resistencia plena a estos antibióticos dado que la cepa era resistente al ácido nalidíxico. Otros centros recomendaron únicamente el tratamiento sintomático o, en caso de administrar algún antibiótico, sugerían principalmente el cotrimoxazol.

Algunos centros consignaron en su respuestas el serotipo de la cepa, *Salmonella enterica* serotipo Blockley, y/o que mayoritariamente pertenecía al grupo C2 (si bien, otros centros informaron C1 o C3). Por último, dos centros caracterizaron la BLEE e informaron que era de tipo SHV.