

## CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-2/12)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Clostridium perfringens*. La historia clínica correspondía a un paciente varón de 66 años de edad, sin antecedentes patológicos de interés, que fue sometido a una intervención quirúrgica por un carcinoma de colon. A los dos días de la operación, el paciente sufrió un empeoramiento de su estado, relatando un dolor intenso en la zona de herida quirúrgica que aumentaba progresivamente en intensidad, por lo que se retiró el vendaje. En la exploración se observó una amplia zona de edema local alrededor de la herida con coloración pálida marmórea y un exudado sero-sanguinolento. El paciente presentó fiebre de 38,2°C, malestar general y ligera taquicardia. Se decidió su traslado a una unidad quirúrgica donde se le realizó desbridamiento y limpieza de la herida. Antes de iniciar tratamiento antibiótico, se tomaron muestras de exudado que se remitieron al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico. La tinción de Gram reveló la presencia de bacilos gramnegativos, bacilos grampositivos cortos, y cocos grampositivos en cadenas. A las 48 h de incubación, se objetivó el crecimiento, entre otros, 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 *C. perfringens* en la muestra problema incubando las placas en atmósfera anaerobia, como sugería el caso clínico.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa fue enviada a los 254 centros participantes, de los que 222 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 87,4%, inferior al de otros controles. En tres ocasiones, tras la siembra de la muestra, no se obtuvo crecimiento (1,5%), lo que se explica presumiblemente por la no incubación de las placas en atmósfera de anaerobiosis. Así, hubo 219 respuestas analizables, con lo que el porcentaje real de participación fue del 86,2%. El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida únicamente la identificación de *C. perfringens*. La mayoría de los centros identificaron correctamente el género y la especie de la cepa remitida (92,9%), mientras un 1,0% informó género *Clostridium*, y otro 3,2% informó otras especies de *Clostridium*, con lo que el 96,8% de los centros participantes encuadraron correctamente la cepa dentro del género *Clostridium* (tabla 1).

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

| Identificación                     | Número | %     |
|------------------------------------|--------|-------|
| <i>Clostridium perfringens</i>     | 206    | 92,9  |
| <i>Clostridium clostridioforme</i> | 2      | 1,0   |
| Género <i>Clostridium</i>          | 2      | 1,0   |
| Bacilo anaerobio                   | 1      | 0,4   |
| Bacilo grampositivo                | 1      | 0,4   |
| <i>Clostridium beijerinckii</i>    | 1      | 0,4   |
| <i>Clostridium fallax</i>          | 1      | 0,4   |
| <i>Clostridium ramosum</i>         | 1      | 0,4   |
| <i>Clostridium septicum</i>        | 1      | 0,4   |
| <i>Clostridium tertium</i>         | 1      | 0,4   |
| <i>Staphylococcus aureus</i>       | 1      | 0,4   |
| <i>Streptococcus salivarius</i>    | 1      | 0,4   |
| No se obtiene crecimiento          | 3      | 1,5   |
| Total                              | 222    | 100,0 |

De los 219 centros que obtuvieron crecimiento, 187 (85,4%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa (tabla 2); 150 de ellos (68,4%) de forma aislada. Respecto a las pruebas manuales, fueron usadas por 45 centros (20,5%). La espectrometría de masas fue realizada por 19 centros (8,7%). Por último, sólo 4 centros (1,8%) realizaron un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa.

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

| Método  | Número | %     |
|---|--------|-------|
| Comercial   | 150    | 68,4  |
| Manual + comercial                                  | 33     | 15,1  |
| Espectrometría de masas                             | 15     | 6,8   |
| Manual  | 10     | 4,5   |
| Comercial + espectrometría de masas                 | 2      | 0,9   |
| Comercial + secuenciación                           | 1      | 0,5   |
| Comercial + secuenciación + espectrometría de masas | 1      | 0,5   |
| Manual + espectrometría de masas                    | 1      | 0,5   |
| Manual + secuenciación                              | 1      | 0,5   |
| Secuenciación                                       | 1      | 0,5   |
| No informa  | 4      | 1,8   |
| Total   | 219    | 100,0 |

Los sistemas comerciales más empleados fueron el Vitek/Vitek 2 (63 centros), seguidos de las galerías API 20A (53 centros) y rapid ID 32A (41 centros), el Maldi-Tof (19 centros), y el RapID ANA II System (12 centros). La capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa se resume en la tabla 4.

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

| Método comercial                   | Número | % uso | % acierto |
|------------------------------------|--------|-------|-----------|
| Galerías API                       |        |       |           |
| API 20A                            | 53     | 25,7  | 96,2      |
| Rapid ID 32A                       | 41     | 19,9  | 95,2      |
| API no especificado                | 4      | 2,0   | 75,0      |
| Vitek/Vitek 2*                     | 63     | 30,6  | 96,8      |
| Maldi-Tof*                         | 19     | 9,2   | 100,0     |
| RapID ANA II System                | 12     | 5,8   | 100,0     |
| BBL Crystal                        | 6      | 2,9   | 100,0     |
| Microscan                          | 6      | 2,9   | 83,3      |
| No especifica el sistema utilizado | 2      | 1,0   | 100,0     |
| Total                              | 206    | 100,0 | 94,2      |

\*Dos centros informaron Maldi-Tof junto con Vitek.

**Tabla 4. Resultados de identificación de *Clostridium* con los sistemas mayoritarios.**

| Sistema             | Número usuarios | <i>C. perfringens</i> | Género <i>Clostridium</i> | <i>C. clostridioforme</i> | Otras especies |
|---------------------|-----------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|----------------|
| Vitek/Vitek 2*      | 63              | 61 (96,8)             | 0                         | 0                         | 0              |
| API 20A             | 53              | 51 (96,2)             | 1 (1,9)                   | 0                         | 1 (1,9)        |
| rapid ID 32A        | 41              | 39 (95,2)             | 0                         | 1 (2,4)                   | 1 (2,4)        |
| Maldi-Tof           | 19              | 19 (100,0)            | 0                         | 0                         | 0              |
| RapID ANA II System | 12              | 12 (100,0)            | 0                         | 0                         | 0              |
| BBL Crystal         | 6               | 6 (100,0)             | 0                         | 0                         | 0              |
| Microscan           | 6               | 5 (83,3)              | 0                         | 0                         | 1 (16,7)       |

\*Los dos centros restantes que realizaron Vitek informaron *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus salivarius*.

Los mejores resultados se obtuvieron con los sistemas comerciales Maldi-Tof, RapID ANA II System, y BBL Crystal (100,0% de aciertos). Respecto al Vitek, 61 de los 63 participantes (96,8%) remitieron la respuesta óptima, si bien hay que tener en cuenta que dos centros realizaron la identificación con una tarjeta diferente de la de anaerobios. En cuanto a las galerías API, 51 de los 53 participantes que emplearon API 20A (96,2%) remitieron la identificación óptima, mientras que, en el caso del rapid ID 32A, fueron 39 de 41 (95,2%) los que informaron *C. perfringens*.

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

### GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 215 centros que realizaron una identificación mínima de género *Clostridium*. De ellos, 45 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 170 antibiogramas. Fueron 81 (47,6%) los centros que realizaron E-test, de los cuales 57 (33,5%) fue el único método empleado. Hubo 75 laboratorios que informaron una técnica de difusión en disco-placa (44,1%), de los que 53 (31,1%) lo hicieron de forma única. El número de participantes que realizaron el método de la concentración crítica fue de 23 (13,5%), mientras que 17 laboratorios (10,0%) determinaron la CMI mediante una técnica de microdilución en caldo. Solamente hubo tres participantes (1,8%) que no especificaron el método empleado (tabla 5).

**Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.**

| Método                              | Número | %     |
|-------------------------------------|--------|-------|
| E-test                              | 57     | 33,5  |
| Disco-placa                         | 53     | 31,1  |
| Concentración crítica               | 21     | 12,4  |
| Disco-placa + E-test                | 17     | 10,0  |
| CMI por microdilución               | 9      | 5,3   |
| CMI + E-test                        | 4      | 2,3   |
| CMI + disco-placa                   | 2      | 1,2   |
| CMI + disco-placa + E-test          | 2      | 1,2   |
| Disco-placa + concentración crítica | 1      | 0,6   |
| E-test + concentración crítica      | 1      | 0,6   |
| No especificado                     | 3      | 1,8   |
| Total                               | 170    | 100,0 |

Sobre un total de 38 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante los métodos de microdilución y concentración crítica fueron los sistemas automatizados ATB ANA (57,5%) y el Sensititre (17,5%), seguidos del Vitek/Vitek 2 (5,0%). Los datos se resumen en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.**

| Marca              | Número | %     |
|--------------------|--------|-------|
| ATB ANA            | 23     | 57,5  |
| Sensititre         | 7      | 17,5  |
| Vitek/Vitek 2      | 2      | 5,0   |
| Microscan          | 1      | 2,5   |
| Preparación propia | 1      | 2,5   |
| No específica      | 6      | 15,0  |
| Total              | 40     | 100,0 |

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia (tabla 6) fueron obtenidos por E-test y se muestran en la tabla 7. 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 para la interpretación de los resultados.

**Tabla 7. Sensibilidad antibiótica de la cepa.**

| Antibiótico             | Interpretación <sup>a</sup> |
|-------------------------|-----------------------------|
| Amoxicilina-clavulanato | S                           |
| Cefotaxima              | S                           |
| Cefoxitina              | S                           |
| Clindamicina            | S                           |
| Imipenem                | S                           |
| Levofloxacino           | S                           |
| Metronidazol            | S                           |
| Moxifloxacino           | S                           |
| Penicilina              | S                           |
| Piperacilina/tazobactam | S                           |
| Vancomicina             | S                           |

<sup>a</sup>S: sensible.

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 8.

**Tabla 8. Antibiograma ideal según tres profesionales.**

| Experto 1               | Experto 2               | Experto 3               |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Penicilina              | Penicilina              | Penicilina              |
| Amoxicilina-clavulanato | Amoxicilina-clavulanato | Amoxicilina-clavulanato |
|                         | Piperacilina-tazobactam | Piperacilina-tazobactam |
| Cefoxitina              |                         | Cefoxitina              |
|                         | Imipenem                | Imipenem                |
|                         |                         | Ertapenem               |
| Clindamicina            | Clindamicina            | Clindamicina            |
| Metronidazol            | Metronidazol            | Metronidazol            |
| Vancomicina             | Vancomicina             |                         |

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 15 diferentes. En total, informaron un total de 42 antibióticos 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, amoxicilina-clavulanato, piperacilina-tazobactam, cefoxitina, imipenem, clindamicina, metronidazol y vancomicina.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla 9 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.

**Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

| Antibiótico             | Número | Interpretación <sup>a</sup> |            |            |
|-------------------------|--------|-----------------------------|------------|------------|
|                         |        | Sensible                    | Intermedio | Resistente |
| Penicilina              | 139    | 139 (100,0)                 | –          | –          |
| Ampicilina              | 35     | 35 (100,0)                  | –          | –          |
| Amoxicilina-clavulanato | 136    | 136 (100,0)                 | –          | –          |
| Piperacilina-tazobactam | 73     | 73 (100,0)                  | –          | –          |
| Cefoxitina              | 85     | 85 (100,0)                  | –          | –          |
| Imipenem                | 119    | 119 (100,0)                 | –          | –          |
| Clindamicina            | 148    | 73 (49,3)                   | 19 (12,8)  | 56 (37,9)  |
| Metronidazol            | 150    | 147 (98,0)                  | –          | 3 (2,0)    |
| Vancomicina             | 36     | 35 (97,2)                   | –          | 1 (2,8)    |

<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 todos los antibióticos, a excepción de la clindamicina, en la que se observó una importante discrepancia entre los diferentes centros. De los 73 centros que informaron la clindamicina como sensible, 34 realizaron E- test (46,6%), 18 concentración crítica (24,7%), 14 disco-placa (19,2%), y 9 determinaron la CMI por un sistema comercial (12,3%). Por el contrario, entre los 56 laboratorios que informaron la clindamicina como resistente, 37 realizaron disco-placa (66,1%), 22 E-test (39,3%), 5 un sistema comercial de CMI (8,9%), y 4 concentración crítica (7,1%).

#### 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: 213 laboratorios (97,3%) afirmaron no haberlo utilizado, 3 centros (1,4%) declararon haberlo requerido y 2 centros (0,9%) lo utilizaron parcialmente. Hubo 1 participante (0,4%) que no aportó información al respecto.

#### COMENTARIOS

Los comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas (13 centros), principalmente el tratamiento con penicilina, imipenem o piperacilina-tazobactam.

Algunos participantes (9 centros) señalaron explícitamente que la cepa era resistente a la clindamicina, o bien, que presentaba sensibilidad intermedia a la misma (1 centro). Tres centros comentaron que la colonia presentaba una doble hemólisis en agar sangre. Por último, dos laboratorios consideran la valoración de la administración de oxigenoterapia hiperbárica.