

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-1/13)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Bacteroides thetaiotaomicron*. La historia clínica correspondía a una paciente mujer de 57 años de edad que acudía a urgencias por presentar un cuadro de dolor abdominal y fiebre de dos días de evolución. La paciente padecía una insuficiencia renal debido a una enfermedad quística medular, por la que había iniciado la diálisis peritoneal continua ambulatoria desde hacía unos meses. A la exploración física la paciente mostraba malestar general, con fiebre termometrada de 38,4°, taquipnea y dolor abdominal difuso sin signos de irritación peritoneal; el orificio de salida del catéter no presentaba signos de infección local. El líquido de diálisis mostraba un aspecto turbio con un recuento celular de 12.100 leucocitos/mm³ con 3.800 neutrófilos. Durante su estancia en urgencias la situación de la paciente empeoró por lo que fue ingresada en el hospital. Se tomaron muestras del líquido de diálisis, que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y micológico, creciendo a las 48 horas 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 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 *B. thetaiotaomicron* en la muestra problema incubando las placas en atmósfera anaerobia.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa fue enviada a los 250 centros participantes, de los que 229 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 91,6%, porcentaje muy similar al del último control (90,0%). En siete ocasiones, tras la siembra de la muestra, no se obtuvo crecimiento (3,1%), lo que se explica presumiblemente por una "inadecuada" incubación de las placas en atmósfera de anaerobiosis. Así, hubo 222 respuestas analizables, con lo que el porcentaje real de participación fue del 88,8%. El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró como respuesta válida la identificación correcta de género. Así, algo menos de la mitad de los centros (42,8%) informaron correctamente la especie *B. thetaiotaomicron*, mientras que un 16,6% informaron *Bacteroides ovatus*, otro 7,8% *Bacteroides fragilis* y un 5,6% género *Bacteroides*. El total de las identificaciones informadas se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación bacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	98	42,8
<i>Bacteroides ovatus</i>	38	16,6
<i>Bacteroides fragilis</i>	18	7,8
Género <i>Bacteroides</i>	13	5,6
<i>Prevotella oralis</i>	10	4,3
Género <i>Prevotella</i>	5	2,1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	1,7
Bacilo gramnegativo anaerobio	3	1,3
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	3	1,3
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	3	1,3
Bacilo anaerobio	2	0,8
<i>Bacteroides caccae</i>	2	0,8
<i>Bacteroides uniformis</i>	2	0,8
<i>Clostridium clostridioforme</i>	2	0,8
<i>Porphyromonas asaccharolitica</i>	2	0,8
<i>Prevotella disiens</i>	2	0,8
<i>Prevotella loescheii</i>	2	0,8
Otros*	13	5,7
No se obtiene crecimiento	7	3,1
Total	229	100,0

*Otras Identificaciones informadas por un solo centro (*Acinetobacter lwoffii*, bacilo gramnegativo, *Bacteroides stercoris*, *Clostridium septicum*, coco grampositivo, *Corynebacterium* CDC grupo G, *Enterobacter aerogenes*, *Legionella pneumophila*, *Prevotella bivia*, *Prevotella melaninogenica*, *Ralstonia pickettii*, *Staphylococcus hominis*).

De los 222 centros que obtuvieron crecimiento, la mayoría de ellos (180, el 81,1%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa (tabla 2), en 134 ocasiones (60,4 %) se emplearon como método único. Respecto a las pruebas manuales, fueron informadas por 43 laboratorios (19,4%), 9 de ellos (4,1%) las emplearon como único método. La espectrometría de masas fue utilizada por 36 centros (16,2%). Por último, sólo 4 laboratorios (1,8%) realizaron un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
--------	--------	---

Comercial	134	60,4
Manual + comercial	32	14,4
Espectrometría de masas	22	9,9
Comercial + espectrometría de masas	14	6,3
Manual	9	4,1
Secuenciación	3	1,4
Inmunocromatografía	1	0,4
Manual + aglutinación	1	0,4
Manual + secuenciación	1	0,4
No informa	5	2,3
Total	222	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron el Vitek 2 (56 centros), seguidos de las galerías API 20A (45 centros) y rapid ID 32A (44 centros), Maldi-Tof (36 centros) y Microscan (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	45	20,9	33,3
Rapid ID 32A	44	20,4	29,5
API ID 32E	1	0,4	0,0
API no especificado	2	0,9	0,0
Vitek 2	56	25,9	57,2
Maldi-Tof	36	16,7	97,2
Microscan	12	5,6	0,0
RapID ANA II System	7	3,3	14,3
BBL Crystal	2	0,9	0,0
RapID CB Plus	1	0,4	0,0
Wider	1	0,4	0,0
No especifica el sistema utilizado	9	4,2	88,9
Total	216	100,0	94,2

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

Sistema	Número usuarios	<i>B. thetaiotaomicron</i>	<i>B. ovatus</i>	<i>B. fragilis</i>	Género <i>Bacteroides</i>	Otras especies de <i>Bacteroides</i>	Otros géneros diferentes de <i>Bacteroides</i>
Vitek 2	56	32 (57,1)	7 (12,5)	0	3 (5,4)	0	14 (25,0)
API 20A	45	15 (33,3)	16 (35,6)	1 (2,2)	5 (11,1)	2 (4,5)	6 (13,3)
rapid ID 32A	44	13 (29,5)	10 (22,7)	8 (18,2)	3 (6,8)	2 (4,6)	8 (18,2)
Maldi-Tof	36	35 (97,2)	0	1 (2,8)	0	0	0
Microscan	12	0	4 (33,3)	0	0	0	8 (66,7)
RapID ANA II System	7	1 (14,3)	0	1 (14,3)	0	1 (14,3)	4 (57,1)
BBL Crystal	2	0	0	2 (100,0)	0	0	0

Los mejores resultados se obtuvieron con los sistemas comerciales Maldi-Tof (97,2% de aciertos), seguido del Vitek 2 (57,1%). En cuanto al resto de sistemas, se obtuvieron resultados inferiores al 50% en la identificación de especie, principalmente debido a que algunos de ellos no permiten diferenciar *B. thetaiotaomicron* de *B. ovatus*.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 172 centros que realizaron una identificación mínima de género *Bacteroides*. De ellos, 51 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 121 antibiogramas. Fueron 56 (47,3%) los centros que realizaron E-test, 41 de ellos empleándolo como único método (33,9%). Hubo 52 laboratorios que informaron una técnica de difusión en disco-placa (43,0%), de los que 35 (28,9%) lo hicieron de forma única. El número de participantes que realizaron el método de la concentración crítica fue de 19 (15,7%), mientras que 11 laboratorios (9,1%) determinaron la CMI mediante una técnica de microdilución en caldo. Solamente hubo un participante (0,8%) que no especificó el método empleado (tabla 5).

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
E-test	41	33,9

Disco-placa	35	28,9
Concentración crítica	18	14,9
Disco-placa + E-test	14	11,6
CMI por microdilución	8	6,6
CMI + disco-placa	2	1,7
CMI + E-test	1	0,8
Disco-placa + concentración crítica	1	0,8
No especificado	1	0,8
Total	121	100,0

Sobre un total de 31 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante los métodos de microdilución y concentración crítica fueron el sistema automatizado ATB ANA (61,3%) seguido del Sensititre (22,6%). Los datos se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
ATB ANA	19	61,3
Sensititre	7	22,6
Microscan	1	3,2
No específica	4	12,9
Total	31	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia 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 interpretó las CMIs obtenidas tanto por criterios CLSI como por EUCAST.

Tabla 7. Sensibilidad antibiótica de la cepa según laboratorio de referencia.

Antibiótico	CMI	Interpretación ^a CLSI	Interpretación EUCAST
Penicilina	>32	R	R
Amoxicilina-clavulanato	0,5	S	S
Piperacilina-tazobactam	4	S	S
Imipenem	0,25	S	S
Clindamicina	4	I	S
Metronidazol	0,58	S	S
Moxifloxacino	1	S	-

^aS: sensible; I: intermedio; R: resistente.

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 Piperacilina-tazobactam	Amoxicilina-clavulanato Piperacilina-tazobactam
Cefoxitina		Cefoxitina
	Imipenem	Imipenem
Clindamicina	Clindamicina	Clindamicina
Metronidazol	Metronidazol	Metronidazol

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, imipenem, cefoxitina, clindamicina y metronidazol.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En este control, como ya sucedía en el último control, se solicitó a los participantes que informasen que criterios de puntos de corte utilizaron para la interpretación del antibiograma. De los 121 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Bacteroides*, 80 (66,2%) utilizaron los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), otros 29 (24,0%) los del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), 7 (5,8%) según la bibliografía, y los 5 restantes (4,1%) se basaron en otros criterios: uno empleó los criterios de la BSAC (*British Society for Antimicrobial Chemotherapy*), otro los criterios de la SFM (*Société Française de Microbiologie*), otro según la ficha técnica del ATB ANA® (bioMérieux), otro utilizó criterios del CLSI y de la bibliografía, y el último centro no aportó información al respecto. Cabe destacar que ni CLSI ni EUCAST informan puntos de corte para interpretar los halos de inhibición obtenidos mediante técnica de disco-placa, y que si dispone de ellos los criterios de la BSAC. Ver tabla 9.

Tabla 9. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Marca	Número	%
CLSI	80	66,2
EUCAST	29	24,0
Bibliografía	7	5,8
CLSI + bibliografía	1	0,8
BSAC	1	0,8
SFM	1	0,8
Según ficha técnica ATB ANA	1	0,8
No informa	1	0,8
Total	121	100,0

En la tabla 10 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 30 antibióticos diferentes.

Tabla 10. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Penicilina	76	2 (2,6)	2 (2,6)	72 (94,8)	–
Amoxicilina-clavulanato	113	110 (97,3)	1 (0,9)	2 (1,8)	–
Piperacilina-tazobactam	64	57 (89,1)	1 (1,5)	6 (9,4)	–
Cefoxitina	61	29 (47,5)	10 (16,4)	20 (32,8)	2 (3,3)
Imipenem	89	89 (100,0)	–	–	–
Clindamicina	109	62 (56,9)	10 (9,2)	37 (33,9)	–
Metronidazol	116	115 (99,1)	–	1 (0,9)	–

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

La mayoría de los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia para todos los antibióticos, a excepción de la clindamicina y la cefoxitina. Respecto a la clindamicina, el laboratorio de referencia informó una CMI de 4 µg/ml, que sería intermedio según los criterios de CLSI y sensible de acuerdo con EUCAST. Respecto a la cefoxitina, la CMI podía interpretarse por criterios CLSI y no EUCAST, ya que este último no informa puntos de corte para este 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, de los 222 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables, 208 laboratorios (93,7%) afirmaron no haberlo utilizado, 5 centros (2,3%) declararon haberlo requerido y 9 centros (4,0%) lo utilizaron parcialmente.

COMENTARIOS

Los comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas (13), principalmente el tratamiento con metronidazol. Diez participantes señalaron que la cepa era productora de β-lactamas.

Diez participantes comentaron que informarían *Bacteroides* grupo *fragilis*, debido a que algunos sistemas comerciales (como el API 20A y el rapid ID 32A) no podían discriminar entre *B. ovatus* y *B. thetaiotaomicron*. Por último, dos participantes recomendaban realizar a la paciente un TC abdominal.