

CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-2/14)

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 un paciente de 49 años de edad que fue remitido a Urgencias por presentar una lesión edematosa en miembro superior derecho. El paciente refería que hacía una semana había estado jugando con su gato y éste le había mordisqueado el brazo, haciéndole pequeñas heridas. Al día siguiente, las heridas presentaban un borde sobreelevado y eritematoso, aumentando paulatinamente el edema y la inflamación del brazo. En las últimas 48 horas presentaba malestar general y sensación distérmica. En el momento de la exploración se objetivaba un edema importante del miembro superior derecho con aumento de la temperatura y eritema en el tercio inferior, así como heridas de bordes violáceos con exudado serosanguinolento. Se realizó una toma del exudado de las lesiones que fue remitido al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico.

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 una cepa de *P. multocida*.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 239 centros participantes, de los que 220 remitieron hoja de respuesta con respuestas valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 92,1%, similar al del último control (94,2%). La mayoría de los participantes identificaron correctamente el género y la especie (97,8%), mientras que dos participantes (1,0%) respondieron *Pasteurella canis* y otro centro informó solamente el género (0,4%). 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 99,1%, moderadamente superior al control B-3/10, en el que también se remitió una cepa de *P. multocida* (entonces, el porcentaje de respuestas aceptables fue del 95,7%). Los dos resultados discrepantes probablemente fueron debidos a errores de transcripción, a partir de resultados de otros controles distintos a éste (errores "postanalíticos"). 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>	215	97,8
<i>Pasteurella canis</i>	2	1,0
<i>Clostridium tertium</i>	1	0,4
Género <i>Pasteurella</i>	1	0,4
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	0,4
Total	220	100,0

En este control, la mayoría de los centros (184, el 83,6%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa, de los que 140 (63,6%) las usaron como único método (tabla 2). Respecto a la espectrometría de masas, como ya viene sucediendo en los últimos controles, se observa la progresiva implantación de esta técnica entre los diferentes laboratorios de Microbiología, utilizada en este control por 56 participantes (25,5%), de los cuales en el 14,0% de las ocasiones fue el único método utilizado. Las pruebas manuales fueron informadas sólo por 24 laboratorios (el 10,9%), la mayoría de ellas utilizadas en combinación con otro método. Por último, 3 laboratorios (1,4%) realizaron un estudio de secuenciación para obtener la identificación de la cepa.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Comercial	140	63,6
Espectrometría de masas	31	14,0
Comercial + Espectrometría de masas	22	10,0
Manual + Comercial	18	8,1
Manual	3	1,4
Manual + Comercial + Espectrometría de masas	2	0,9
Comercial + Secuenciación	1	0,5
Comercial + Secuenciación + Espectrometría de masas	1	0,5
Manual + Aglutinación	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
Total	220	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron el equipo Vitek 2 (70 centros) y el Microscan (62 centros), seguidos del MALDI-TOF (56 laboratorios, agrupando Bruker y Vitek). 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 ^a	Número	% uso	% acierto
Vitek/Vitek 2	70	29,8	94,3
Microscan	62	26,4	100,0
Maldi-Tof (Bruker / bioMerieux)	56	23,8	96,5
Galerías API			
API 20NE	24	10,2	100,0
API 20E	8	3,4	100,0
Wider	10	4,3	100,0
Phoenix	4	1,7	100,0
BBL Crystal	1	0,4	100,0
Total	235	100,0	94,3

^aEmpleados solos o combinados con otras pruebas.

Tabla 4. Resultados de identificación con los sistemas mayoritarios.

Sistema	Número usuarios	<i>P. multocida</i>	<i>P. canis</i>	Género <i>Pasteurella</i>	<i>C. tertium</i>	<i>S. sciuri</i>
Vitek 2	70	66 (94,3)	2 (2,9)	1 (1,4)	0 (0,0)	1 (1,4)
Microscan	62	62 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Maldi-Tof	56	54 (96,4)	0 (0,0)	1 (1,8)	1 (1,8)	0 (0,0)
API 20 NE	24	24 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Wider	10	10 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
API 20E	8	8 (100,0)	1 (9,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Los mejores resultados se obtuvieron con los sistemas Microscan, con las galerías API 20 NE y API 20E y con el Wider, identificando todos ellos correctamente la especie de la cepa en el 100% de las ocasiones. A continuación le sigue el Maldi-Tof (agrupando las dos marcas comerciales) con un 96,4% de respuestas óptimas y el Vitek 2 (94,3%). Por último, los sistemas Phoenix y BBL Crystal fueron informados por pocos centros, con lo que no se pueden sacar conclusiones.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 218 centros que realizaron una identificación mínima de género *Pasteurella*. De ellos, trece no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 205 antibiogramas. Fueron 115 (56,1%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 83 (40,4%) lo hicieron de forma exclusiva.

El número de participantes que determinó la CMI mediante técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 92 (44,9%), empleándose como método único en el 35,6% de los casos. Las tiras de E-test® fueron utilizadas por 34 de los centros (16,6%), en 12 de ellos (5,9%) como única técnica. Por último, un participante (0,5%) no especificó el método empleado (tabla 5).

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Disco-placa	83	40,4
CMI por microdilución	73	35,6
Disco-placa + E-test®	17	8,3
CMI + disco-placa	14	6,8
E-test®	12	5,9
CMI + E-test®	4	2,0
CMI + disco-placa + E-test®	1	0,5
No especificado	1	0,5
Total	205	100,0

Sobre un total de 92 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Vitek 2 (46,7%) y Microscan (34,8%), seguidos del Wider (12,0%). Los datos se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Vitek/Vitek 2	43	46,7
Microscan	32	34,8
Wider	11	12,0
Sensititre	4	4,3
Preparación propia	1	1,1
No específica	1	1,1
Total	92	100,0

En la tabla 7, se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia, obtenidos mediante microdilución (Sensititre) o E-test®. 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 7. Interpretación cualitativa de la sensibilidad antibiótica de la cepa.

Antibiótico	Interpretación ^a
Ampicilina	S
Amoxicilina-clavulanato	S
Ceftriaxona	S
Levofloxacino	S
Cotrimoxazol	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, 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. 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
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

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

Se solicitó a los participantes que informasen qué criterios de puntos de corte utilizaron para la interpretación del antibiograma. De los 205 laboratorios que realizaron antibiograma con la identificación mínima de género *Pasteurella*, 123 (60,0%) emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), otros 67 (32,7%) los del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) y 15 (7,3%) según la bibliografía (tabla 9).

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

Marca	Número	%
CLSI	123	60,0
EUCAST	67	32,7
Bibliografía	15	7,3
Total	205	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 42 antibióticos diferentes.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Penicilina	73	71 (97,3)	0	2 (2,7)	0
Ampicilina/amoxicilina	123	120 (97,6)	1 (0,8)	1 (0,8)	1 (0,8)
Amoxicilina-clavulanato	184	182 (98,9)	0	0	2 (1,1)
Cotrimoxazol	170	165 (97,0)	0	4 (2,4)	1 (0,6)
Cefuroxima	44	44 (100,0)	0	0	0
Cefotaxima	153	152 (99,4)	0	0	1 (0,6)
Ceftriaxona	37	36 (97,3)	0	0	1 (1,7)
Imipenem	45	45 (100,0)	0	0	0
Ciprofloxacino	152	151 (99,4)	0	0	1 (0,6)
Levofloxacino	62	61 (98,4)	0	0	1 (1,6)
Gentamicina	48	41 (85,4)	0	7 (14,6)	0
Eritromicina	36	10 (27,8)	1 (2,8)	25 (69,4)	0
Tetraciclina	70	68 (97,2)	0	1 (1,4)	1 (1,4)

^aLos 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 (penicilina, ampicilina, amoxicilina-clavulanato, cefotaxima, imipenem, cotrimoxazol, ciprofloxacino, levofloxacino, tetraciclina).

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: 209 laboratorios (95,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 9 (4,1%) declararon haberlo requerido y 2 (0,9%) lo utilizaron parcialmente.

COMENTARIOS

El comentario mayoritario fue sobre las recomendaciones terapéuticas (21 centros), principalmente con amoxicilina-clavulanato. Otros centros (14) especificaron que la cepa no era productora de β -lactamasa.

Seis centros explicaron que la cepa se había adquirido a través de la mordedura del gato, ya que esta bacteria se encuentra en la flora orofaríngeo de muchos animales como perros y gatos. Por último, cuatro participantes comentaron que *P. multocida* se debe informar como resistente a los aminoglucósidos, independientemente de la sensibilidad obtenida *in vitro*.