

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-4/18

En el Análisis de Resultados del presente control se comentan los resultados obtenidos en el estudio micobacteriológico de la muestra enviada para control externo. Se trató de un tubo de Löwenstein-Jensen sembrado por el Programa de Control de Calidad Externo SEIMC (Programa CCS) con la micobacteria a estudio. Ésta se había obtenido a partir de una cepa de reserva que había sido debidamente almacenada y, cuyo estudio, fue realizado por los laboratorios externos expertos que actuaron de referencia para el Programa CCS. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de las muestras a través de ensayos realizados tras la siembra de los tubos de Löwenstein-Jensen y tras su envío, asegurando así la validez de las mismas.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, que emplearon métodos con sensibilidad y especificidad adecuadas para cada determinación. Además, la identificación fue refrendada mediante estudio de secuenciación. Estos laboratorios expertos colaboran con el Programa CCS mediante la firma de acuerdos.

El presente Análisis de Resultados ha sido elaborado por especialistas en Microbiología y Parasitología.

La confidencialidad de todos los resultados está asegurada a través de la firma de compromisos de confidencialidad por parte de todo el personal del Programa CCS y de sus colaboradores.

INTRODUCCIÓN

En este control, se envió a los distintos laboratorios participantes una cepa de micobacteria en medio de Löwenstein-Jensen. La micobacteria había sido aislada de un varón de 71 años con antecedentes de enolismo crónico y fumador activo de dos cajetillas/día, que consultaba por presentar un cuadro de empeoramiento de su estado general de hacía aproximadamente dos semanas de evolución, acompañado de aumento de su disnea habitual que había pasado de moderados a mínimos esfuerzos y aumento de la tos con expectoración blanquecina. El paciente refería que había presentado febrícula vespertina, astenia y anorexia durante los dos últimos meses. A la exploración física destacaba su aspecto caquético. La auscultación pulmonar reveló hipoventilación generalizada y crepitantes bilaterales. En la radiografía de tórax se observaba un patrón destructivo pulmonar con una cavidad con nivel hidroaéreo en lóbulo superior derecho, mientras que en el TAC torácico se identificó la presencia de un patrón enfisematoso y presencia de bronquiectasias con áreas de consolidación y neumonitis sin identificarse crecimientos ganglionares significativos, hiliomediastínicos ni axilares. Se decidió realizar una fibrobroncoscopia y se tomó una muestra de aspirado broncoalveolar que fue remitida al Servicio de Microbiología para cultivo de micobacterias. A los 10 días de incubación, creció la micobacteria que fue objeto de este control.

Se solicitó a los centros participantes la **identificación** de la micobacteria implicada en el caso clínico y la realización de **pruebas de sensibilidad**, así como los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos.

VALOR ASIGNADO

El valor asignado para la identificación de la cepa y empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium kansasii*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante hibridación inversa y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

El valor asignado de sensibilidad antibiótica (antibiograma de consenso de expertos) fue obtenido por microdilución y se muestra en la tabla 1. Para la interpretación de los resultados se emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) del documento M24-A2 correspondientes a *M. kansasii*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M24-A2-2011)
Amikacina	2	S
Ciprofloxacino	2	S
Claritromicina	0,25	S
Cotrimoxazol	>8/152	R
Estreptomina	4	NI ^b
Etambutol	4	S
Isoniacida	4	NI ^b
Linezolid	2	S
Moxifloxacino	≤0,12	S
Rifabutina	≤0,25	S
Rifampicina	0,25	S

Abreviaturas: S –sensible-, R –resistente-, NI –no interpretado-.

^bSegún CLSI isoniácida y estreptomina pueden usarse clínicamente, aunque no hay establecidos puntos de corte que permitan la interpretación de sensibilidad/resistencia para micobacterias no tuberculosas; sólo se puede informar la CMI sin interpretación.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 101 centros inscritos a este control, de los que respondieron 90, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación real es del 89,1%. Este porcentaje es similar al del último control de micobacterias, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* (91,1%), y también al del control MB-1/16, en el que se remitió una cepa de *M. kansasii* (89,6%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuesta válida la identificación correcta de género y especie *M. kansasii* (incluyendo la identificación *M. kansasii* genotipo 1).

Como puede observarse en la tabla 2, la inmensa mayoría de los centros (88, el 97,8%) identificó correctamente la especie, de los cuales un 5,6% informó el genotipo. El resto de los centros (2,2%) tan sólo realizaron una aproximación genérica.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium kansasii</i>	83	92,2
<i>M. kansasii</i> genotipo 1	5	5,6
Género <i>Mycobacterium</i>	2	2,2
Total	90	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 90 centros que enviaron la hoja de respuesta, hubo dos de ellos (2,2%) que no aportaron información al respecto, recurriendo ambos a un laboratorio externo.

Las dos técnicas más empleadas por los participantes, usadas en solitario o bien combinadas junto con otro método, fueron la hibridación inversa (52 centros, 57,8%), seguida de la espectrometría de masas (34 participantes, 37,8%). Respecto a la secuenciación, únicamente fue requerida por 2 de los centros (2,2%). El conjunto de los métodos empleados se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	25	27,8
Hibridación inversa	24	26,7
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	11	12,3
Hibridación inversa + espectrometría de masas	8	8,9
Sonda + hibridación inversa	5	5,6
Hibridación inversa + características morfo-culturales	2	2,2
Oligocromatografía	2	2,2
Secuenciación	2	2,2
Sonda	2	2,2
Características morfológicas y culturales	1	1,1

Espectrometría de masas + métodos moleculares + Bioquímica	1	1,1
Hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,1
PCR a tiempo real	1	1,1
Pruebas bioquímicas + características morfo-culturales	1	1,1
Sonda + hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,1
Sonda + inmunocromatografía	1	1,1
No informa	2	2,2
Total	90	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio de las tiras de hibridación inversa GenoType *Mycobacterium* CM de Hain Lifescience (40,5% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas), seguidas del MALDI-TOF de Bruker (28,6%). Estos sistemas obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie *M. kansasii*. Obviamente, la PCR Xpert® aportó resultados negativos para *M. kansasii* al detectar únicamente el complejo *M. tuberculosis* (tabla 4).

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
GenoType Mycobacterium CM (Hain)	34	40,5	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	24	28,6	100,0
GenoType Mycobacterium (Hain) ^a	5	6,0	100,0
GenoType MTBC (Hain) ^b	5	6,0	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	4	4,7	100,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain)	3	3,6	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	3	3,6	100,0
Accuprobe® (Gen-Probe®, bioMérieux)	2	2,4	100,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	2	2,4	100,0
Xpert® (Cepheid) ^b	1	1,1	0,0
No informa	1	1,1	100,0
Total	84	100,0	98,8

^aNo especifican el *kit* de GenoType utilizado.

^bEstos *kits* no permiten la detección de *M. kansasii*.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 88 centros que informaron *M. kansasii*. De ellos 48 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 40 antibiogramas.

Las técnicas mayoritarias fueron la microdilución (17 centros, el 42,5% de las respuestas con antibiograma), seguida de la dilución en medio líquido (12 centros, el 30,0%). El conjunto de los métodos empleados se detalla en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	17	42,5
Dilución en medio líquido / concentración crítica / proporciones	12	30,0
Tira de gradientes de concentración	4	10,0
Proporciones + tira de gradientes de concentración	1	2,5
No informa	6	15,0
Total	40	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destacan el panel de microdilución de Sensititre™, usado por 15 centros (37,5%), seguido del equipo automatizado BACTEC™ MGIT™ 960 de Becton Dickinson (10 centros, 25,0%) y de las tiras de E-test® de bioMérieux (4 centros, 10,0%). Hubo 10 participantes (25,0%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, de los cuales nueve remitieron el antibiograma a un centro externo. El conjunto de las marcas empleadas para el estudio de sensibilidad se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	15	37,5
BACTEC™ MGIT™ (Becton Dickinson)	10	25,0
E-test® (bioMérieux)	4	10,0
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	2,5
No informa ^a	10	25,0
Total	40	100,0

^a Métodos: microdilución (2), proporciones (2), no informado (6).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

En cuanto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 40 laboratorios que lo realizaron, 29 (72,5%) emplearon los criterios del CLSI, otros 7 (17,5%) informaron según criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y los 4 restantes (10,0%) según los publicados en la bibliografía. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 7.

Tabla 7. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Criterio	Número	%
CLSI	29	72,5
EUCAST	7	17,5
Bibliografía	4	10,0
Total	40	100,0

Se solicitó a los participantes que categorizaran el valor obtenido tal cual en su antibiograma (halo inhibición o CMI) y, en el caso de que quisieran realizar una lectura interpretada de los resultados para alguno de los antibióticos, que ésta la consignaran en el apartado de comentarios y no en la tabla de respuesta.

Los antibióticos informados por los participantes para los que no se dispone de valor asignado no son evaluados por parte del Programa CCS, por lo que aparecen en este AR sólo a modo informativo, sin efectos de comparación.

En el estudio de sensibilidad, el Programa CCS considera como resultados **NO aceptables** los **errores máximos** de categorización (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente).

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 10. En total, se han recibido resultados correspondientes a 24 antibióticos diferentes, pero tan sólo 12 fueron informados por 10 o más participantes. Como se puede observar en dicha tabla, existe una excelente concordancia entre los laboratorios participantes y el valor asignado frente a la claritromicina, etambutol, linezolida, moxifloxacino, pirazinamida, rifabutina y rifampicina. Sin embargo, en el resto de antituberculosos ensayados, la concordancia es menor, sin asociarse a ningún método o marca en concreto.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	28	20 (71,4)	0	8 (28,6)	0	0
Ciprofloxacino	17	10 (58,8)	0	7 (41,2)	0	0
Claritromicina	24	24 (100,0)	0	0	0	0
Cotrimoxazol	12	5 (41,7)	0	7 (58,3)	0	0

Estreptomina	18	4 (22,2)	0	10 (55,6)	4 (22,2)	0
Etambutol	30	29 (96,7)	0	1 (3,3)	0	0
Isoniacida	21	6 (28,6)	0	11 (52,4)	4 (19,0)	0
Linezolid	25	25 (100,0)	0	0	0	0
Moxifloxacin	16	16 (100,0)	0	0	0	0
Pirazinamida	11	1 (9,1)	0	10 (90,9)	0	0
Rifabutina	12	12 (100,0)	0	0	0	0
Rifampicina	38	38 (100,0)	0	0	0	0

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

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 90 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 76 (84,4%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 7 (7,8%) indicaron que sí lo habían empleado y otros 6 (6,7%) lo usaron parcialmente. Por último, hubo un centro (1,1%) que emitió la hoja de respuesta de forma manual sin informar de esta premisa.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Tres centros recomendaron tratamiento combinado principalmente con rifampicina, etambutol y claritromicina. Tres centros indicaron que, si bien la isoniazida y la estreptomina podían usarse clínicamente, no existían puntos de corte para ninguna de ellas.

Por último, tres laboratorios comentaron que, de tratarse de una muestra clínica, habrían remitido la cepa a su centro de referencia para antibiograma, mientras que otros tres laboratorios señalaron que el antibiograma informado se había enviado a su centro de referencia.

Madrid, 23 de abril de 2019




C/ Agustín de Betancourt, 13
Entreplanta - 28003 Madrid
NIF: G-78387057

Concepción Gimeno Cardona
Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC

Nota: todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar no son objeto de evaluación por parte del Programa CCS, por lo que este aspecto está fuera del alcance de la acreditación por ENAC.

Nota: las actividades subcontratadas por el Programa CCS son la tipificación de las cepas, necesaria para que desde el Programa se establezca el valor asignado a partir del consenso de resultados de dos laboratorios expertos,. Si en un determinado momento se necesita subcontratar otras actividades diferentes a las indicadas se informará debidamente.

Cumpliendo con los requerimientos de la norma ISO/IEC 17043, las actividades subcontratadas que afectan a los resultados de las pruebas solicitadas y a los estudios de homogeneidad y estabilidad son realizadas por colaboradores externos, acreditados por la norma ISO 15189 o evaluados previamente por el Programa CCS según los criterios de la norma ISO 15189.

Nota: si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.