

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-4/19

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 a partir de un paciente de 73 años, que acudía a su médico por presentar un cuadro de tos escasamente productiva con aumento de su disnea habitual de dos semanas de evolución; el paciente no refería fiebre vespertina ni pérdida de peso. La auscultación pulmonar mostraba escasos crepitantes bilaterales en las bases. Se decidió instaurar un ciclo de tratamiento antibiótico empírico, pero previamente se recogieron tres muestras de esputo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. A los 12 días de incubación creció, a partir del cultivo en medio líquido de una de las muestras, 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 de referencia empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium gordonae*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante hibridación inversa y espectrometría de masas (MALDI-TOF), y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

No se dispone de valor asignado para el estudio de sensibilidad dado que la micobacteria aislada se considera un contaminante, por lo que el objeto del presente control fue tan solo la identificación.

MB-4/19

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 101 centros inscritos a este control, de los que respondieron 96, todos ellos con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 95,0%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium abscessus* (91,1% de participación), e idéntico al del control MB-3/17, en el que también se remitió una cepa de *M. gordonae* (95,0% de participación).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad aceptó como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*M. gordonae*), así como *Mycobacterium paragordoniae*, especie estrechamente relacionada. Como se puede observar en la tabla 1, la mayoría de los laboratorios (57, el 59,4%) identificaron la cepa remitida como *M. gordonae*, mientras que otros 35 laboratorios (36,5%) respondieron *M. paragordoniae*, por lo que el porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 95,9%.

Tabla 1. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium gordonae</i>	57	59,4
<i>Mycobacterium paragordoniae</i>	35	36,5
Género <i>Mycobacterium</i>	2	2,1
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i>)	1	1,0
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1	1,0
Total	96	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 96 centros que enviaron la hoja de respuesta con datos analizables, 3 (3,2%) no aportaron información al respecto, recurriendo todos ellos a un laboratorio externo de referencia.

Respecto a las técnicas empleadas por los participantes, en este control destaca en primer lugar la espectrometría de masas usada, bien en solitario o bien combinadas con otro método (hibridación inversa, secuenciación o pruebas bioquímicas) por 49 centros (51,0%). En segundo lugar, destacan las pruebas de hibridación inversa, empleadas por 40 laboratorios (41,7%). Otros métodos informados fueron la PCR a tiempo real (8 centros, 8,4%), la secuenciación (7 centros, 7,3%), las sondas moleculares (5 centros, el 5,2%), la oligocromatografía (2 centros, 2,1%), las pruebas bioquímicas (2 centros, 2,1%) y la PCR-RFLP (1 centro, 1,0%). El conjunto de los métodos empleados para la identificación queda reflejado en la tabla 2.

MB-4/19

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	40	41,7
Hibridación inversa	17	17,7
Hibridación inversa + PCR ^a a tiempo real	8	8,4
Hibridación inversa + espectrometría de masas	6	6,3
Secuenciación	5	5,2
Sonda + hibridación inversa	5	5,2
Características morfológicas y culturales	2	2,1
Espectrometría de masas + secuenciación	2	2,1
Oligocromatografía	2	2,1
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	1	1,0
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,0
Hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,0
Hibridación inversa + PCR-RFLP ^a	1	1,0
Inmunocromatografía	1	1,0
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	1	1,0
No informa	3	3,2
Total	96	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa; RFLP: *restriction fragment length polymorphism*.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (41,6% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas), seguido de las tiras de hibridación inversa de GenoType *Mycobacterium* CM de Hain Lifescience (el 33,7%). Todos estos sistemas comerciales obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de las especies *M. goodii* o *M. paratuberculosis*. La totalidad de las marcas empleadas se muestra en la tabla 3, mientras que la capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 4.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto ^a
MALDI-TOF (Bruker)	37	41,6	100,0
GenoType <i>Mycobacterium</i> CM (Hain)	30	33,7	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	6	6,8	100,0

MB-4/19

INNO-LiPA® (Fujirebio)	4	4,5	75,0
GenoType Mycobacterium (Hain) ^b	3	3,4	100,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	2	2,2	100,0
GenoType MTBC (Hain) ^c	1	1,1	100,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain) ^c	1	1,1	100,0
SD BIOLINE TB Ag (Standard Diagnostics) ^c	1	1,1	0,0
No informa ^d	4	4,5	100,0
Total	89	100,0	97,8

^aSe han agrupado las identificaciones *M. gordonae* y *M. paragordonae*.

^bNo especifican el *kit* de GenoType utilizado.

^cEstos *kits* no permiten la detección de *M. gordonae*.

^dMétodos empleados: espectrometría de masas (1), no informan (3).

Tabla 4. Resultados de identificación de *M. gordonae* con los sistemas comerciales más empleados^a.

Sistema	Número	<i>M. gordonae</i>	<i>M. paragordonae</i>	<i>M. chelonae</i>
MALDI-TOF (Bruker)	37	8 (21,6)	29 (78,4)	0
GenoType Mycobacterium CM (Hain)	30	30 (100,0)	0	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	6	6 (100,0)	0	0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	4	2 (50,0)	1 (25,0)	1 (25,0)
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	2	2 (100,0)	0	0

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

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 92 centros que realizaron una identificación de *M. gordonae* o *M. paragordonae*. De ellos, tan sólo 11 (12,0%) realizaron estudio de sensibilidad. De los 81 laboratorios restantes, 26 informaron en sus comentarios que no procedía realizarlo, ya que *M. gordonae* no se consideraba patógeno.

Respecto a los 11 centros que informaron un estudio de sensibilidad, 5 realizaron un panel de microdilución de Sensititre™ (45,5%), uno (9,0%) utilizó las tiras de gradiente de concentración MIC Test Strip de Liofilchem®, mientras que los cinco restantes (45,5%) remitieron la cepa a un laboratorio externo para la realización del antibiograma y no informaron del método ni de la marca empleada. Estos datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
--------	--------	---

MB-4/19

Microdilución	5	45,5
Tiras de gradientes de concentración	1	9,0
No informa	5	45,5
Total	11	100,0

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 96 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa con resultados analizables, 85 (88,5%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 6 (6,3%) indicaron que sí lo habían empleado y los 5 restantes (5,2%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario más frecuente (28 centros), como ya se ha mencionado, era que *M. gordonae* es una micobacteria ambiental, que había crecido únicamente en una de las tres muestras de esputo, por lo que podía considerarse un contaminante y no estaba indicado hacer su estudio de sensibilidad.

Hubo dos centros que comentaron que en la prueba de fotoinducción, *M. gordonae* era una micobacteria escotocromógena. Por último, dos centros que respondieron en su hoja de respuesta *M. gordonae* comentaron explícitamente que, mediante el MALDI-TOF de Bruker, obtuvieron la identificación *M. paragordoniae* o bien que el score obtenido entre ambas especies era muy similar.

Madrid, 11 de mayo de 2020



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.

MB-4/19

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.

MB-4/19