

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-3/21

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-Jenseny 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 micobacteria sembrada en medio de Löwenstein-Jensen. La cepa había sido aislada a partir de una paciente de 37 años, que había sido sometida hacía tres años a cirugía cardíaca por una comunicación interauricular. Se había realizado cierre con parche pericárdico autólogo y colocación de un dispositivo intracardiaco para medición de presiones intracavitarias. Acudió a consultas externas por presentar un cuadro progresivo de deterioro del estado general de tres semanas de evolución con astenia, febrícula y escalofríos de predominio vespertino. En los días previos, el cuadro se había agravado con cierta dificultad respiratoria y aparición de edemas de miembros inferiores. Se decidió su ingreso para realización de ecocardiografía e inicio de tratamiento antibiótico. Previamente se extrajeron tres parejas de hemocultivos que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y un frasco para cultivo de micobacterias. Al cabo de 5 días se detectó crecimiento de 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.

MB-3/21

## VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium smegmatis*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica (valor asignado) fueron obtenidos por un sistema de microdilución comercial y se muestran en la tabla 1. Para la interpretación de los resultados se emplearon los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) correspondientes a las micobacterias de rápido crecimiento.

**Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.**

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización
		CLSI (M62-1st ed-2018)
Amikacina	≤1	S
Cefoxitina	32	I
Ciprofloxacino	0,25	S
Claritromicina	>16	R
Cotrimoxazol	≤0,25	S
Doxiciclina	1	S
Imipenem	8	I
Linezolid	≤1	S
Minociclina	≤1	S
Moxifloxacino	≤0,25	S
Tobramicina	2	S

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 99 centros inscritos a este control, de los que respondieron 91, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación fue del 91,9%. Este porcentaje es similar tanto al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* (88,9% de participación), como también al del control MB-2/18, en el que también se remitió una cepa de *M. smegmatis* (93,1% de participación).

MB-3/21

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuesta válida la identificación correcta de género y especie *M. smegmatis*.

Como puede observarse en la tabla 2, la gran mayoría de los centros (86,8%) identificaron correctamente la especie de la cepa remitida. El resto de los laboratorios informaron el complejo o la especie *Mycobacterium fortuitum*.

**Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.**

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	79	86,8
Complejo <i>Mycobacterium fortuitum</i>	6	6,6
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	4	4,4
Complejo <i>M. fortuitum</i> / <i>M. chelonae</i>	1	1,1
Complejo <i>M. fortuitum</i> / <i>M. peregrinum</i>	1	1,1
Total	91	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 91 centros que enviaron la hoja de respuesta, hubo 2 de ellos (2,2%) que no aportaron información al respecto, recurriendo ambos a un laboratorio externo.

En este control, la técnica empleada mayoritariamente fue la espectrometría de masas que fue usada, bien en solitario o bien combinada con otro método (hibridación inversa, secuenciación o PCR a tiempo real) por 60 de los centros (65,9%). A continuación, le siguen la hibridación inversa (35 centros, el 38,5%), la secuenciación (9 centros, el 9,9%), la inmunocromatografía (2 centros, el 2,2%) y las pruebas bioquímicas (1 centro, el 1,1%). El conjunto de los métodos empleados para la identificación queda reflejado en la tabla 3.

**Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.**

Método	Número	%
Espectrometría de masas	45	49,4
Hibridación inversa	17	18,7
Espectrometría de masas + hibridación inversa	8	8,8
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	7	7,7
Espectrometría de masas + secuenciación	6	6,6

MB-3/21

Secuenciación	2	2,2
Hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,1
Hibridación inversa + PCR a tiempo real + espectrometría de masas	1	1,1
Hibridación inversa + secuenciación	1	1,1
Pruebas bioquímicas + inmunocromatografía	1	1,1
No informa	2	2,2
Total	91	100,0

<sup>a</sup>PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (48,8% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas). A continuación, le siguen las tiras de hibridación inversa GenoType Mycobacterium AS (18,6%) y GenoType Mycobacterium CM (15,1%), ambas de Hain Lifescience (actualmente de Bruker). El conjunto de todas las marcas comerciales empleadas se muestra en la tabla 4. Hay que señalar que las tiras GenoType Mycobacterium CM no permiten detectar claramente la especie *M. smegmatis*, ya que solo algunas variantes raras de *M. smegmatis* pueden mostrar un patrón de bandas similar a algunas especies del grupo *M. fortuitum*.

**Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	42	48,8	100,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain)	16	18,6	100,0
GenoType Mycobacterium CM (Hain) <sup>a</sup>	13	15,1	15,4
MALDI-TOF (VITEK® MS)	12	14,0	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	3	3,5	67,0
Total	86	100,0	86,0

En la tabla 5, se señala la capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa remitida. Al analizar los sistemas comerciales que son capaces de detectar *M. smegmatis*, todos ellos obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de esta especie, con la excepción del INNO-LiPA® (empleado sólo por tres centros), en el que el porcentaje de aciertos alcanzó el 67,0%.

**Tabla 5. Resultados de identificación de *M. smegmatis* con los sistemas comerciales más empleados<sup>a</sup>.**

Sistema	Número	<i>M. smegmatis</i>	Complejo <i>M. fortuitum</i>	<i>M. fortuitum</i>	Complejo <i>M. fortuitum</i> / <i>M. chelonae</i>	Complejo <i>M. fortuitum</i> / <i>M. peregrinum</i>
MALDI-TOF (Bruker)	42	42 (100,0)	0	0	0	0
GenoType Mycobacterium AS	16	16 (100,0)	0	0	0	0
GenoType Mycobacterium CM	13	2 (15,4)	6 (46,2)	4 (30,7)	1 (7,7)	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	12	12 (100,0)	0	0	0	0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	3	2 (67,0)	0	0	0	1 (33,0)

<sup>a</sup>Los 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 79 centros que obtuvieron la identificación de *M. smegmatis*. De ellos 31 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 48 antibiogramas.

La técnica más utilizada fue la microdilución, empleada por 31 centros (64,6% de las respuestas con antibiograma), seguida de las tiras de gradiente de concentración (15 centros, el 31,3%). La totalidad de los métodos empleados se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución	28	58,3
Tiras de gradiente de concentración	11	22,9
Tiras de gradiente de concentración + microdilución	3	6,3
Dilución en medio líquido / proporciones	2	4,2
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	2,0
No informa	3	6,3
Total	48	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destacan el panel de microdilución de Sensititre®, usado por 27 centros (57,4%), seguido de las tiras de Etest® de bioMérieux (12 centros, el 25,5%). Hubo 3 participantes (6,4%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, de los cuales dos

MB-3/21

remitieron el antibiograma a un centro externo. El conjunto de las marcas empleadas para el estudio de sensibilidad se muestra en la tabla 7.

**Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma.**

Marca	Número	%
Sensititre™ (ThermoScientific)	27	57,4
Etest® (bioMérieux)	12	25,5
BD BACTEC™ MGIT™	2	4,3
Liofilchem® MIC Test Strip	2	4,3
VersaTREK™ (Thermo Fisher)	1	2,1
No informa	3	6,4
Total	47	100,0

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Respecto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 48 laboratorios que lo realizaron hubo 41 (85,4%) que emplearon los criterios del CLSI y los 7 restantes (14,6%) informaron que habían utilizado los criterios de EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 8.

**Tabla 8. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.**

Criterio	Número	%
CLSI	41	85,4
EUCAST	7	14,6
Total	48	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).

MB-3/21

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 10. En total, se han recibido resultados correspondientes a 38 antibióticos diferentes, pero tan solo 13 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 mayoría de los antimicrobianos ensayados, con la excepción de la cefoxitina, de la claritromicina y del imipenem. En el caso de la cefoxitina, en base al valor asignado, la cepa presentaba una CMI de 32 µg/mL (sensibilidad intermedia), pero diferencias en una dilución cambiarían la interpretación a sensible (CMI ≤16 µg/mL) o resistente (≥128 µg/mL). En cuanto a la claritromicina, *M. smegmatis* presenta resistencia intrínseca a los macrólidos. Y, por último, respecto al imipenem, según el valor asignado, la cepa presentaba una CMI de 8 µg/mL (sensibilidad intermedia), aunque diferencias en una dilución cambiaría la interpretación a sensible (CMI ≤4 µg/mL). A pesar de ello, según informa CLSI, los aislados de *M. smegmatis* presentan una buena respuesta clínica al imipenem.

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

Antibiótico	Nº	Categorización <sup>a</sup>				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	45	38 (84,4)	7 (15,6)	0	0	0
Cefoxitina	28	11 (39,3)	11 (39,3)	6 (21,4)	0	0
Ciprofloxacino	43	38 (88,4)	5 (11,6)	0	0	0
Claritromicina	46	12 (26,1)	1 (2,2)	32 (69,5)	1 (2,2)	0
Cotrimoxazol	36	31 (86,1)	2 (5,6)	3 (8,3)	0	0
Doxiciclina	41	34 (82,9)	7 (17,1)	0	0	0
Etambutol	10	3 (30,0)	3 (30,0)	3 (30,0)	1 (10,0)	0
Imipenem	42	28 (66,7)	10 (23,8)	4 (9,5)	0	0
Linezolid	43	37 (86,0)	5 (11,6)	0	1 (2,4)	0
Minociclina	11	10 (90,9)	0	0	1 (9,1)	0
Moxifloxacino	36	30 (83,3)	6 (16,7)	0	0	0
Tigeciclina	11	7 (63,6)	1 (9,1)	0	3 (27,3)	0
Tobramicina	26	25 (96,2)	1 (3,8)	0	0	0

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

Abreviatura: SEI (sensible con exposición incrementada).

## UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 91 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 78 (85,7%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 6 (6,6%) indicaron que sí lo habían empleado y los otros 7 (7,7%) lo usaron parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Cuatro centros realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente la retirada del dispositivo intracardíaco junto a la administración de una fluoroquinolona asociada a la doxiciclina, cotrimoxazol, amikacina o imipenem. Dos centros afirmaron que *M. smegmatis* era una especie poco patógena.

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

Madrid, 1 de diciembre de 2021



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.

MB-3/21



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

MB-3/21