

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-4/22

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 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 en una paciente de 76 años, exfumadora de 20 cigarrillos/día, que había acudido a su médico por presentar un cuadro de tos escasamente productiva con ligero aumento de su disnea habitual a medianos esfuerzos. Los síntomas habían comenzado hacía más de 15 días y no se había producido mejoría clara tras tres días de tratamiento antibiótico con azitromicina. La paciente no refería fiebre ni pérdida de peso ponderada. La auscultación cardiopulmonar mostraba escasos crepitantes bilaterales en ambas bases y tonos cardiacos rítmicos sin soplos. Se recogieron tres muestras de esputo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. Se instauró un segundo ciclo de un nuevo tratamiento antibiótico, tras el cual se consiguió mejoría de la paciente. A los 17 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.

MB-4/22

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue el de *Mycobacterium gordonae*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante hibridación inversa 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.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 99 centros inscritos a este control, de los que respondieron 88, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación es del 88,9%. Este porcentaje es inferior al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *M. intracellulare* (96,0% de participación) aunque similar al del control M-4/20, en el que también se remitió una cepa de *M. gordonae* (90,1% 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 mitad de los laboratorios (44, el 50,0%) identificaron correctamente la especie de la cepa remitida, mientras que otros 43 laboratorios (48,9%) respondieron *M. paragordoniae*, por lo que el porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 98,9%.

Tabla 1. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium gordonae</i>	44	50,0
<i>Mycobacterium paragordoniae</i>	43	48,9
<i>Mycolicibacterium farcinogenes</i>	1	1,1
Total	88	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control la técnica empleada mayoritariamente por los participantes fue la espectrometría de masas que fue usada, bien en solitario o bien combinada con otro método (hibridación inversa, secuenciación o inmunocromatografía) por 55 de los centros (62,5%). A continuación, le siguen la hibridación inversa (34 centros, el 38,6%), la secuenciación (8 centros, el 9,1%), la PCR a tiempo real (6 centros el 6,8%) y la oligocromatografía (1 centro, el 1,1%). El conjunto de los métodos empleados para la identificación queda reflejado en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	45	51,2
Hibridación inversa	22	25,0
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	6	6,8
Espectrometría de masas + hibridación inversa	4	4,6
Espectrometría de masas + secuenciación	4	4,6
Secuenciación	3	3,4
Espectrometría de masas + hibridación inversa + secuenciación	1	1,1
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	1	1,1
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,1
Oligocromatografía	1	1,1
Total	88	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (55,3% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas), seguido de las tiras de hibridación inversa GenoType Mycobacterium CM de Hain (32,9%) y del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (8,2%). La totalidad de las marcas comerciales empleadas se muestra en la tabla 3. Hay que señalar que ni las tiras GenoType Mycobacterium AS ni las tiras GenoType MTBC detectan *M. gordonae*.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	47	55,3	8,5
GenoType Mycobacterium CM (Hain, Bruker)	28	32,9	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	7	8,2	100,0

MB-4/22

GenoType MTBC (Hain, Bruker) ^a	1	1,2	100,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain, Bruker) ^a	1	1,2	100,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	1	1,2	100,0
Total	85	100,0	49,4

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

En la tabla 4 se señala la capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa remitida. Las tiras GenoType Mycobacterium CM y el MALDI-TOF de VITEK® MS obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie *M. gordonae*. Respecto al MALDI-TOF de Bruker, el 89,4% de los centros que lo habían utilizado identificaron la cepa como *M. paragordoniae* y únicamente el 8,5% respondió *M. gordonae*.

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

Sistema	Número	<i>M. gordonae</i>	<i>M. paragordoniae</i>	<i>M. farcinogenes</i>
MALDI-TOF (Bruker)	47	4 (8,5)	42 (89,4)	1 (2,1)
GenoType Mycobacterium CM (Hain)	28	28 (100,0)	0	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	7	7 (100,0)	0	0

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 87 centros que realizaron una identificación de *M. gordonae* o *M. paragordoniae*. De ellos, 66 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 21 antibiogramas (el 24,1%).

Las dos técnicas empleadas fueron la microdilución (18 centros, el 85,7% de los centros con antibiograma), seguida de las tiras de gradiente de concentración (2 centros, el 9,5%). Estos datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	18	85,7
Tiras de gradientes de concentración	2	9,5
No informa	1	4,8
Total	21	100,0

MB-4/22

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destaca el panel de microdilución de Sensititre™, usado por 16 centros (el 84,1% que realizaron antibiograma con un sistema comercial). 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)	16	84,1
Etest® (bioMérieux)	1	5,3
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	5,3
VersaTREK™ (Thermo Fisher)	1	5,3
Total	19	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 21 laboratorios que lo realizaron, 16 (76,2%) emplearon los criterios del CLSI y los 5 restantes (23,8%) manifestaron haber seguido los criterios EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 7. Llama la atención que algunos participantes respondan criterios EUCAST para determinados microorganismos para los que no existen puntos de corte.

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

Criterio	Número	%
CLSI	16	76,2
EUCAST	5	23,8
Total	21	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.

MB-4/22

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 15 antibióticos diferentes, de los cuales 9 fueron informados por 10 o más participantes.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	20	19 (95,0)	0	0	1 (5,0)	0
Ciprofloxacino	19	15 (78,9)	3 (15,8)	0	1 (5,3)	0
Claritromicina	20	20 (100,0)	0	0	0	0
Cotrimoxazol	17	13 (76,5)	0	3 (17,6)	1 (5,9)	9
Doxiciclina	17	1 (5,9)	6 (35,3)	9 (52,9)	1 (5,9)	0
Linezolid	18	17 (94,4)	0	0	1 (5,6)	0
Moxifloxacino	17	16 (94,1)	0	0	1 (5,9)	0
Rifabutina	11	8 (72,7)	0	2 (18,2)	1 (9,1)	0
Rifampicina	11	9 (81,8)	0	1 (9,1)	1 (9,1)	0

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

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 88 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 80 (90,9%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 3 (3,4%) indicaron que sí lo habían empleado y los 5 restantes (5,7%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario más frecuente (20 centros) 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 ni había puntos de corte establecidos para esta especie.

Hubo dos centros que comentaron que la cepa había tenido un crecimiento lento, por lo que no habían podido realizar el antibiograma. Otros dos centros recomendaron la recogida de nuevas muestras seriadas a la paciente.

MB-4/22

Por último, dos centros manifestaron la dificultad de diferenciar *M. gordonae* de *M. paragordonae* con los distintos métodos disponibles.

Madrid, 21 de febrero de 2023



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.

MB-4/22