

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-3/23

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 micobacteria sembrada en medio de Löwenstein-Jensen. La cepa había sido aislada a partir de una paciente de 42 años sin antecedentes patológicos de interés, que presentaba desde hacía tres semanas una lesión ulcerada, junto con eritema y edema, en el dorso de la mano izquierda. La paciente relataba que la lesión se había producido por un traumatismo con un utensilio punzante mientras realizaba tareas de limpieza en un acuario de la piscifactoría donde trabaja. A pesar de que se había iniciado tratamiento antibiótico, la herida había presentado una evolución tórpida con tendencia a la ulceración y aparición posterior de nódulos satélites en el antebrazo y adenopatías regionales, sin conseguir mejoría clínica evidente. A la exploración, se observaba una lesión nodular ulcerada, bien delimitada y cubierta por una costra con escaso exudado sero-sanguinolento. A la palpación se detectaban otros dos pequeños nódulos que seguían un trayecto lineal a lo largo de la cadena linfática junto con edema y aumento de la temperatura local de la zona. Se realizó biopsia de la lesión principal y se remitieron las muestras de tejido al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias, creciendo a los 15 días 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-3/23

VALOR ASIGNADO

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

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución y se muestran en la tabla 1. El consenso de expertos usó para la interpretación de los resultados los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) correspondientes a las micobacterias de lento crecimiento.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M24S-Ed2-2023)
Amikacina	≤1	S
Ciprofloxacino	0,5	S
Claritromicina	≤0,06	S
Doxiciclina	≤0,12	S
Linezolid	≤1	S
Moxifloxacino	≤0,12	S
Rifabutina	0,5	S
Rifampicina	≤0,12	S

^aS: sensible.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 101 centros inscritos a este control, de los que respondieron 98, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación es del 97,0%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* / *Mycobacterium canettii* (95,0% de participación real). Así mismo, este porcentaje es ligeramente superior al del control MB-1/19, en el que también se remitió una cepa de *M. marinum* (92,1% de participación real).

MB-3/23

IDENTIFICACIÓN

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

Como puede observarse en la tabla 2, la práctica totalidad de los centros participantes (96, el 98,0%) identificaron correctamente la especie de la cepa. Los dos centros restantes respondieron *Mycobacterium ulcerans* (2,0%).

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium marinum</i>	96	98,0
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	2	2,0
Total	98	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, pruebas bioquímicas, PCR a tiempo real, inmunocromatografía o secuenciación) por 67 de los centros (68,4%), de los cuales en un 59,2% de las ocasiones fue el único método empleado. A continuación, le siguen la hibridación inversa (30 centros, el 30,6%), la PCR a tiempo real (8 centros, el 8,2%), la secuenciación (4 centros, el 4,1%) y el LiquidArray® (3 centros, el 3,1%). 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	58	59,2
Hibridación inversa	15	15,3
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	6	6,2
Espectrometría de masas + hibridación inversa	4	4,1
Sonda + hibridación inversa	4	4,1
LiquidArray®	3	3,1
Espectrometría de masas + Bioquímica + PCR a tiempo real	2	2,0
Secuenciación	2	2,0
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	1	1,0

MB-3/23

Espectrometría de masas + secuenciación	1	1,0
Espectrometría de masas + sonda	1	1,0
Hibridación inversa + secuenciación	1	1,0
Total	98	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (54,2% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales que se informaron), seguido de las tiras GenoType Mycobacterium CM de Hain (20,8%) y del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (8,4%). Todos estos sistemas obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie *M. marinum*. Hay que tener en cuenta que ni las tiras de hibridación inversa GenoType Mycobacterium CM de Hain ni las tiras INNO-LiPA® Mycobacteria de Fujirebio son capaces de diferenciar por sí solas la especie *M. marinum* de *M. ulcerans*. Por otra parte, las tiras GenoType Mycobacterium AS de Hain únicamente pueden detectar, entre otras especies, *M. ulcerans* pero no *M. marinum*. La totalidad de las marcas que se informaron se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	52	54,2	100,0
GenoType Mycobacterium CM (Hain, Bruker)	20	20,8	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	8	8,4	100,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain, Bruker) ^a	7	7,3	71,4
FluoroType® Mycobacteria (Hain, Bruker)	3	3,2	100,0
INNO-LiPA® Mycobacteria (Fujirebio)	2	2,1	100,0
Allplex™ MTB/MDR/XDR _e (Seegene) ^a	1	1,0	100,0
BD MAX™	1	1,0	100,0
BD MGIT™ TBc ^a	1	1,0	100,0
GenoType NTM-DR (Hain, Bruker) ^a	1	1,0	100,0
Total	96	100,0	97,9

^aEstos equipos no permiten la detección de *M. marinum*.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 96 centros que informaron *M. marinum*. De ellos 55 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 41 antibiogramas.

MB-3/23

La técnica mayoritaria fue la microdilución (31 centros, el 75,6% de las respuestas con antibiograma), seguida de las tiras de gradiente de concentración (7 centros, el 17,1%). Los métodos empleados se detallan en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	29	70,8
Tiras de gradientes de concentración	5	12,2
Dilución en medio líquido	1	2,4
Dilución en medio líquido + microdilución	1	2,4
Proporciones + tiras de gradientes de concentración	1	2,4
Proporciones + tiras de gradientes de concentración + microdilución	1	2,4
No informa	3	7,4
Total	41	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, destaca el panel Sensititre™, usado por 28 centros (el 68,2% que realizaron antibiograma), seguido de las tiras de Etest® de bioMérieux (5 centros, el 12,2%). Hubo 3 participantes (7,4%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, recurriendo todos ellos a un centro externo para el antibiograma. El conjunto de las marcas empleadas en el estudio de sensibilidad se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	28	68,2
Etest® (bioMérieux)	5	12,2
MIC Test Strip (Liofilchem®)	2	4,9
BD BACTEC™ MGIT™	1	2,4
Fabricación propia	2	4,9
No informa ^a	3	7,4
Total	41	100,0

^aMétodos: no informado (4).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Respecto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 41 laboratorios que lo realizaron, 35 (85,4%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que 5 laboratorios (12,2%) manifestaron haber seguido los criterios de EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) y otro participante (2,4%) se basó en los publicados en la bibliografía. Llama la atención que algunos centros respondan criterios de EUCAST para determinados microorganismos para los que no existen puntos de corte. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 7.

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

Criterio	Número	%
CLSI	35	85,4
EUCAST	5	12,2
Bibliografía	1	2,4
Total	41	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 23 antibióticos diferentes, de los cuales 10 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	39	38 (97,4)	0	0	1 (2,6)	0
Ciprofloxacino	24	9 (37,5)	5 (20,8)	9 (37,5)	1 (4,2)	0
Claritromicina	40	39 (97,5)	0	0	1 (2,5)	0
Cotrimoxazol	24	13 (54,2)	0	10 (41,7)	1 (4,1)	0

MB-3/23

Doxiciclina	26	21 (80,8)	4 (15,4)	1 (3,8)	0	0
Etambutol	15	10 (66,7)	0	3 (20,0)	2 (13,3)	0
Linezolida	31	28 (90,3)	0	0	3 (9,7)	0
Moxifloxacino	36	28 (77,8)	5 (13,9)	2 (5,6)	1 (2,7)	0
Rifabutina	21	20 (95,2)	0	0	1 (4,8)	0
Rifampicina	37	36 (97,3)	0	0	1 (2,7)	0

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

Como se puede observar en dicha tabla, existe una excelente concordancia entre los laboratorios participantes y el valor asignado frente a todos los antimicrobianos ensayados, con la única excepción del ciprofloxacino, en el que se observó discrepancia de resultados entre los centros, sin asociarse a ningún método o marca en concreto.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 98 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 87 (88,8%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 2 (2,0%) indicaron que sí lo habían empleado y los otros 9 (9,2%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Cuatro participantes comentaron que el estudio de sensibilidad no estaba indicado en *M. marinum*, salvo cuando hubiera una mala respuesta al tratamiento.

Hubo tres centros que realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento combinado con claritromicina asociada al etambutol o rifampicina. Otros tres centros comentaron que el GenoType Mycobacterium CM de Hain no diferenciaba *M. marinum* de *M. ulcerans*.

Por último, 5 laboratorios mencionaron que el antibiograma informado se había enviado a un centro externo, mientras que otros 2 centros señalaron que en caso de ser una muestra clínica el antibiograma se habría remitido a un centro externo.

Madrid, 28 de noviembre de 2023




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

MB-3/23

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-3/23