

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB423

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 a partir de una paciente de 54 años, con antecedentes de bronquiolitis obliterante constrictiva y bronquiectasias en relación con la artritis reumatoide que padecía, que acudió a urgencias de su hospital de área por una exacerbación clínica respiratoria, con tos persistente y expectoración mucopurulenta, astenia y aumento de su disnea habitual a medianos esfuerzos. Como antecedentes de interés la paciente había padecido una tuberculosis pulmonar hacía 10 años que fue correctamente tratada y curada. A la exploración, la paciente presentaba regular estado general, temperatura de 37,8°C y la auscultación pulmonar revelaba disminución del murmullo vesicular, y crepitantes en ambas bases, pero sobre todo en hemitórax derecho. En la analítica que se solicitó, se objetivaba ligera leucocitosis y en la bioquímica, elevación de las enzimas hepáticas en relación con el tratamiento de la artritis reumatoide. La radiografía de tórax mostraba disminución del volumen de hemitórax derecho y lesión del parénquima pulmonar por presencia de pequeñas cavitaciones. Se decidió ingresar a la paciente y se solicitó estudio bacteriológico y de micobacterias en tres muestras de esputo. En dos de ellos el cultivo bacteriológico permitió aislar *Pseudomonas aeruginosa* y en el segundo la baciloscopia fue positiva. El cultivo micobacteriológico de las tres muestras a los cinco días de incubación permitió el aislamiento de la micobacteria que fue objeto de este control.

MB423

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 abscessus* subsp. *abscessus* (actualmente denominada *Mycobacteroides abscessus*). 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 por microdilución mediante un panel comercial 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*) del documento M24S correspondientes a las micobacterias de crecimiento rápido.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M24S-Ed2-2023)
Amikacina	2	S
Cefoxitina	64	I
Ciprofloxacino	4	R
Claritromicina	0,25	S
Cotrimoxazol	8	R
Doxiciclina	>16	R
Imipenem	8	I
Linezolid	8	S
Minociclina	>8	R
Moxifloxacino	2	I

^aS: sensible, R: resistente, I: intermedio.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 101 centros inscritos a este control, de los que respondieron 95. Uno de ellos no informó de ninguna identificación debido a una falta de un reactivo, por lo que hubo 94 respuestas con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación real del 93,1%. Este porcentaje es similar al del último

MB423

control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium marinum* (97,0% de participación real). Así mismo, este porcentaje es similar al del control MB319, en el que también se remitió una cepa de *M. abscessus* (91,1% de participación real).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como óptima la identificación *M. abscessus* subsp. *abscessus*, y aceptó como válidas las identificaciones complejo *M. abscessus*, *M. abscessus* (*Mycobacteroides abscessus*) y *M. abscessus* / *M. immunogenum*.

Como puede observarse en la tabla 2, la mayoría de los laboratorios (91, el 96,8%) identificaron correctamente la especie *M. abscessus* o su complejo. Otros 2 laboratorios (2,1%) informaron *M. abscessus/immunogenum* y un laboratorio (1,1%) informó complejo *M. chelonae*. El porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 97,8% de los participantes.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
Complejo <i>Mycobacterium abscessus</i>	43	45,7
<i>Mycobacterium abscessus</i> subsp. <i>abscessus</i>	32	34,0
<i>Mycobacterium abscessus</i> (<i>Mycobacteroides abscessus</i>)	15	16,0
<i>Mycobacterium abscessus</i> / <i>M. immunogenum</i>	2	2,1
Complejo <i>Mycobacterium chelonae</i>	1	1,1
<i>Mycobacterium abscessus</i> subsp. <i>massiliense</i>	1	1,1
Total	94	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control la técnica empleada mayoritariamente por los participantes fue la espectrometría de masas, usada en solitario o combinada con otro método (hibridación inversa, inmunocromatografía, secuenciación, pruebas bioquímicas o PCR a tiempo real) por 61 de los centros (64,9%), de los cuales en un 39,3% de las ocasiones fue el único método empleado. A continuación, le siguen la hibridación inversa (44 centros, el 46,8%), el Liquid Array® (5 centros, el 5,3%), la PCR a tiempo real (5 centros, el 5,3%) y la secuenciación (5 centros, el 5,3%). El conjunto de los métodos empleados para la identificación queda reflejado en la tabla 3.

MB423

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	37	39,3
Espectrometría de masas + hibridación inversa	19	20,2
Hibridación inversa	18	19,1
LiquidArray®	5	5,3
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	4	4,3
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	2	2,1
Espectrometría de masas + secuenciación	2	2,1
Secuenciación	2	2,1
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas + PCR a tiempo real	1	1,1
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,1
Hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,1
Secuenciación + características morfo-culturales	1	1,1
Sonda + hibridación inversa	1	1,1
Total	94	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 (39,5% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales que se informaron), seguido de las tiras de hibridación inversa GenoType NTM-DR de Hain/Bruker (23,1%) y de las tiras GenoType *Mycobacterium* CM de Hain/Bruker (16,5%). Todos estos sistemas comerciales obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie o del complejo *M. abscessus* a excepción de las tiras de INNO-LiPA®. Ello se debe a que el INNO-LiPA®, detecta el complejo *M. chelonae*, sin ser capaz de discriminar entre las especies *M. chelonae*, *M. abscessus* y *M. immunogenum*. La totalidad de las marcas informadas se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	36	39,5	100,0
GenoType NTM-DR (Hain, Bruker)	21	23,1	100,0
GenoType <i>Mycobacterium</i> CM (Hain)	15	16,5	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	9	9,9	100,0

MB423

FluoroType® Mycobacteria (Hain, Bruker)	5	5,5	100,0
Anyplex™ MTB/NTM (Seegene)	1	1,1	100,0
BD MGIT™TBc (Becton Dickinson) ^a	1	1,1	100,0
GenoType MTBC (Hain, Bruker) ^a	1	1,1	100,0
GenoTypeMTBDRs/ (Hain, Bruker) ^a	1	1,1	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio) ^a	1	1,1	0,0 ^b
Total	91	100,0	98,9

^a Estos equipos no permiten la detección de *M. abscessus*.^bSe informó complejo *Mycobacterium chelonae*.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a todos los 94 centros que realizaron una identificación de *M. abscessus*, de su complejo o bien del complejo *M. chelonae*. De ellos, 35 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 59 antibiogramas.

Las dos técnicas mayoritarias fueron la microdilución (40 centros, el 67,8% de las respuestas con antibiograma), seguida de las tiras de gradientes de concentración (18 centros, el 30,5%). Estos datos se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	37	62,7
Tiras de gradientes de concentración	10	16,9
Disco-placa + tiras de gradientes de concentración	4	6,8
Tiras de gradientes de concentración + microdilución	3	5,1
Dilución en medio líquido	2	3,4
Dilución medio líquido + tiras de gradientes de concentración	1	1,7
No informa	2	3,4
Total	59	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI destaca, en primer lugar, el panel de microdilución de Sensititre™, que fue usado por 35 centros (el 59,3% de los centros que realizaron antibiograma), seguido por las tiras de Etest® de bioMérieux (14 centros, el 23,7%). Hubo 4 participantes (6,8%) que no aportaron

MB423

información al respecto. 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™ (ThermoScientific)	35	59,3
Etest® (bioMérieux)	14	23,7
MIC Test Strip (Liofilchem®)	2	3,4
BD BACTEC™ MGIT™ (Becton Dickinson)	2	3,4
Fabricación propia	2	3,4
No informa ^a	4	6,8
Total	59	100,0

^aMétodos: microdilución (2), no informado (2).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Respecto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 59 laboratorios que lo realizaron, 52 (88,1%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que 5 laboratorios (8,5%) manifestaron el haber seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) y otro participante (1,7%) se basó en los publicados en la bibliografía. Por último, hubo un participante (1,7%) que no informó de este dato. 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	52	88,1
EUCAST	5	8,5
Bibliografía	1	1,7
No informa	1	1,7
Total	59	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.

MB423

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 28 antibióticos diferentes, de los cuales 13 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	55	51 (92,7)	4 (7,3)	0	0	0
Cefoxitina	47	6 (12,8)	28 (59,6)	12 (25,5)	1 (2,1)	0
Ciprofloxacino	43	2 (4,7)	2 (4,7)	39 (90,6)	0	0
Claritromicina	56	53 (94,6)	1 (1,8)	2 (3,6)	0	0
Cotrimoxazol	43	7 (16,3)	0	36 (83,7)	0	0
Doxiciclina	43	1 (2,3)	1 (2,3)	41 (95,4)	0	0
Imipenem	50	13 (26,0)	11 (22,0)	25 (50,0)	1 (2,0)	0
Levofloxacino	11	1 (9,1)	0	8 (72,7)	2 (18,2)	0
Linezolid	53	33 (62,3)	3 (5,7)	17 (32,0)	0	0
Minociclina	21	2 (9,15)	0	14 (66,7)	5 (23,8)	0
Moxifloxacino	41	3 (7,3)	4 (9,8)	34 (82,9)	0	0
Tigeciclina	22	9 (40,9)	0	0	12 (54,6)	1 (4,5)
Tobramicina	28	15 (53,6)	6 (21,4)	7 (25,0)	0	0

^a Los 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 la mayoría de los antimicrobianos ensayados, con las excepciones de la cefoxitina, imipenem y linezolid en los que se observó una moderada discrepancia entre los centros.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 94 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa con resultados analizables, 84 (89,4%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 2 (2,1%) indicaron que sí lo habían empleado y los 8 restantes (8,5%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Doce centros indicaron que no habían detectado ninguna mutación de resistencia a la claritromicina ni a otros fármacos antituberculosos.

Ocho participantes especificaron la subespecie de la cepa enviada, que se trataba de un *M. abscessus* subsp. *abscessus*.

Otros tres centros realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con la asociación de amikacina con claritromicina, hasta la obtención del resultado del antibiograma. Tres centros comentaron que el MALDI-TOF de Bruker y el GenoType Mycobacterium CM de Hain no diferenciaban entre las subespecies de *M. abscessus*.

Por último, siete laboratorios señalaron que, de tratarse de una muestra clínica, habrían remitido la cepa a su centro de referencia para antibiograma; mientras que dos laboratorios comentaron explícitamente que el antibiograma informado se había realizado en su centro de referencia.

Madrid, 27 de marzo de 2024



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.

MB423

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.

MB423