

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB224

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 en un paciente de 82 años con dolor e impotencia funcional de hombro izquierdo de 2 meses de evolución, que acudía a urgencias de trauma por presentar zona de tumefacción dolorosa que le impedía la movilidad. El paciente había sido diagnosticado de tendinitis del supraespinoso mediante resonancia magnética. Como antecedentes de interés, relataba ser portador de un desfibrilador automático implantable y presentar historia de dolor crónico en hombro izquierdo por el que había recibido diversos tipos de tratamiento conservador durante más de un año (infiltración con corticoides, acupuntura, e infiltraciones de concentrado de plaquetas rico en factores de crecimiento). A la exploración, el paciente presentaba limitación muy importante de la movilidad activa y pasiva; se objetivaba tumoración blanda en zona escapulohumeral, dolorosa a la palpación que fistulizaba expulsando gran cantidad de líquido serohemático tras la apertura con anestesia local. La radiología simple revelaba lesiones líticas de la articulación glenohumeral y el TAC mostraba la destrucción glenohumeral lítica, focos de esclerosis y un aumento difuso de las partes blandas, lo que sugería un proceso inflamatorio-infeccioso. Se realizó limpieza quirúrgica de la lesión y se tomaron muestras para cultivo bacteriológico y de micobacterias, creciendo a los 17 días en medio líquido 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.

MB224

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue el de *Mycobacterium tuberculosis* / *Mycobacterium canettii*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante hibridación inversa. La identificación de la especie *M. tuberculosis* fue confirmada por la secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos mediante concentración crítica con un sistema 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*) correspondientes al complejo *M. tuberculosis*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M24S-Ed2-2023)
Isoniacida	≤0,1	S
Rifampicina	≤1	S
Pirazinamida	≤100	S
Etambutol	≤5	S
Estreptomicina	≤1	S

^aS: sensible.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 102 centros inscritos a este control, de los que respondieron 98, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación real fue del 96,1%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium terrae* (92,1% de participación real). Así mismo, este porcentaje es también similar al del control MB223, en el que también se remitió una cepa de *M. tuberculosis* (95,0% de participación real).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuestas válidas las identificaciones complejo *M. tuberculosis*, *M. tuberculosis* y *M. tuberculosis* / *M. canettii*, por la cercanía genética entre ambas especies.

Como puede observarse en la tabla 2, algo más de la mitad de los centros (53, el 54,1%) informaron el complejo *M. tuberculosis*, mientras que hubo un 38,8% que respondió la especie *M. tuberculosis* y un 6,1% contestó *M. tuberculosis* / *M. canettii*, por lo que el porcentaje de acierto total alcanzó al 99,0% de los participantes.

MB224

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	53	54,1
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	38	38,8
<i>M. tuberculosis</i> / <i>M. canettii</i>	6	6,1
<i>Mycobacterium bovis</i>	1	1,0
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 o inmunocromatografía) por 47 de los centros (48,0%), en un 28,6% de las ocasiones como único método empleado. A continuación, le siguen la hibridación inversa (42 centros -42,9%-), la PCR a tiempo real (24 centros -24,5%), la inmunocromatografía (11 centros -11,2%-), las pruebas bioquímicas (5 centros -5,1%-), el LiquidArray® (1 centro -1,0%-), la secuenciación (1 centro -1,0%-) y el *spoligotyping* (1 centro -1,0%-). 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	28	28,6
Hibridación inversa	20	20,4
PCR a tiempo real	13	13,3
Espectrometría de masas + hibridación inversa	11	11,2
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas + PCR a tiempo real	5	5,1
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	5	5,1
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	3	3,1
Hibridación inversa + inmunocromatografía	3	3,1
Inmunocromatografía	3	3,1
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,0
Hibridación inversa + inmunocromatografía + <i>spoligotyping</i>	1	1,0
LiquidArray®	1	1,0
PCR	1	1,0

MB224

PCR a tiempo real + inmunocromatografía	1	1,0
Secuenciación	1	1,0
Sonda + hibridación inversa	1	1,0
Total	98	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales, hubo un predominio de las tiras de hibridación inversa de GenoType de Hain Lifescience (Bruker), empleadas en su conjunto (agrupando los reactivos MTBC, *Mycobacterium* CM, MTBDR *plus* y MTBDR *sl*) por 36 centros (38,3% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales). A continuación, le siguen el MALDI-TOF de Bruker (35,1%) y los cartuchos Xpert® de Cepheid (9,5%). Todos estos sistemas comerciales obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie o del complejo *M. tuberculosis*. La identificación de *Mycobacterium bovis* fue informada por un centro que utilizó el MALDI-TOF de Bruker junto con una inmunocromatografía. El conjunto de las marcas empleadas se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	33	35,1	97,0
GenoType MTBC (Hain, Bruker)	28	29,7	100,0
Xpert® (Cepheid)	9	9,5	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	8	8,5	100,0
GenoType <i>Mycobacterium</i> CM (Hain, Bruker)	4	4,2	100,0
GenoType MTBDR <i>plus</i> (Hain, Bruker)	3	3,1	100,0
Anyplex™ MTB/NTMe (Seegene)	1	1,1	100,0
Anyplex™ II MTB/MDR/XDR (Seegene)	1	1,1	100,0
BD MAX™	1	1,1	100,0
BD MGIT™ TBc	1	1,1	100,0
Bioline™ TB Ag MPT64 (Abbott)	1	1,1	100,0
Capilia™ TB-Neo (Tauns)	1	1,1	100,0
FluoroType® (Hain, Bruker)	1	1,1	100,0
GenoType MTBDRs/ (Hain, Bruker)	1	1,1	100,0
TBCheck MPT64 (Hain)	1	1,1	100,0
Total	94	100,0	98,9

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 98 centros que realizaron la identificación de *M. tuberculosis* o de su complejo. De ellos, 19 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad mientras que otros 2 centros no introdujeron ningún antituberculoso en la aplicación, con lo que se analizaron así un total de 77 antibiogramas.

La técnica más utilizada fue la dilución en medio líquido empleada, al menos, por 73 centros (94,8% de las respuestas con antibiograma), seguida de la microdilución (2 centros, el 2,6%) y de las tiras de gradiente de concentración (1 centro, el 1,3%). Por último, hubo 2 laboratorios (2,6%) que no informaron de esta premisa. La totalidad de los métodos empleados se detalla en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Dilución en medio líquido / concentración crítica / proporciones	72	93,5
Microdilución	2	2,6
Dilución medio líquido + tiras de gradientes de concentración	1	1,3
No informa	2	2,6
Total	77	100,0

Respecto a los sistemas comerciales informados para el antibiograma, destaca el equipo automatizado BD BACTEC™ MGIT™ 960 de Becton Dickinson, que fue utilizado por 73 de los centros (94,8%). Hubo 2 centros (2,6%) que utilizaron el panel Sensititre™ de Thermo Fisher, mientras que otros 2 centros (2,6%) no aportaron información al respecto. Estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
BD BACTEC™ MGIT™	73	94,8
Sensititre™	2	2,6
No informa ^a	2	2,6
Total	77	100,0

^aMétodos: no informa (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 77 laboratorios que lo realizaron, 61 (79,2%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que 11 laboratorios (14,3%) manifestaron el haber seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) y otro laboratorio (1,3%) se basó en los publicados en la bibliografía. Por último, hubo 4 participantes (5,2%) que no informaron de esta premisa. 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	61	79,2
EUCAST	11	14,3
Bibliografía	1	1,3
No informan	4	5,2
Total	77	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 **erroresmáximos** 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 9 antibióticos diferentes, de los cuales 5 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
Estreptomicina	73	73 (100,0)	0	0	0	0
Etambutol	76	76 (100,0)	0	0	0	0
Isoniacida	77	76 (98,7)	0	1 (1,3)	0	0
Pirazinamida	64	63(98,4)	0	1 (1,6)	0	0
Rifampicina	77	77 (100,0)	0	0	0	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.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 98 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 88 (89,8%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 5 (5,1%) indicaron que sí lo habían empleado y otros 5 (5,1%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Fueron dieciocho los centros que informaron que la prueba de inmunocromatografía para la proteína MPT64 del complejo *M. tuberculosis* había sido negativa. Diecisiete centros indicaron que no detectaron ninguna mutación de resistencia a la rifampicina ni a otros fármacos antituberculosos.

Hubo 4 centros que comentaron que no habían podido realizar el estudio de sensibilidad a pirazinamida debido a la retirada por el fabricante de un lote defectuoso de este compuesto. Por último, dos laboratorios mencionaron que el antibiograma informado se había enviado a un centro externo.

Madrid, 2 de septiembre de 2024




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

MB224

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.

MB224