

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB324

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 un paciente de 67 años que era remitido a su neumólogo de zona por presentar un cuadro de tos seca que posteriormente se volvía productiva, con esputo mucopurulento, de 4 meses de evolución, acompañada de ligera disnea progresiva y pérdida aproximadamente de 3 kg de peso en los dos meses anteriores. Además, el paciente presentaba de forma intermitente febrícula de predominio vespertino y diaforesis nocturna. A lo largo de este tiempo, había recibido tratamiento antibiótico empírico en dos ocasiones sin mejoría significativa de los síntomas. Como antecedentes de interés, refería el ser fumador (25 cigarrillos/día) y presentaba una broncopatía crónica. A la exploración, la auscultación pulmonar revelaba ligera taquipnea, y sibilancias en ambos campos pulmonares de predominio derecho. La radiografía de tórax mostraba infiltrados heterogéneos en lóbulos superiores y una pequeña cavitación en el lóbulo superior derecho. Se recogieron tres muestras de esputo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, micológico y de micobacterias. Las baciloscopias resultaron negativas, pero a los 14 días de incubación en medio líquido se obtuvo el crecimiento de la micobacteria que fue el 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.

MB324

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium kansasii*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante el método de LiquidArray® 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*) del documento M24S 2ª edición (2023) correspondientes a *M. kansasii*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M24S-Ed2-2023)
Amikacina	4	S
Ciprofloxacino	2	I
Claritromicina	0,25	S
Estreptomicina	>64	NI
Etambutol	16	NI
Etionamida	≤0,3	NI
Isoniacida	1	NI
Linezolid	2	S
Moxifloxacino	0,25	S
Rifampicina	0,25	S

^aS: sensible, I: intermedio, NI: no interpretado.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 102 centros inscritos a este control, de los que respondieron 94, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación ha sido del 92,2%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* / *Mycobacterium canettii* (96,1% de participación real). Por otra parte, este porcentaje es superior al del control MB220, en el que también se remitió una cepa de *M. kansasii* (85,0% de participación real).

MB324

IDENTIFICACIÓN

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

Todos estos centros excepto uno (93, el 98,9%) identificaron correctamente la especie. El conjunto de todas las identificaciones informadas se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium kansasii</i>	93	98,9
Micobacteria fotocromógena de crecimiento lento	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 informada, bien en solitario o bien combinada con otro método (hibridación inversa, inmunocromatografía, pruebas bioquímicas, PCR a tiempo real o secuenciación), por 58 de los centros (61,7%), 32 de ellos usándola como único método (51,0%). A continuación, le siguen la hibridación inversa (32 centros, el 34,0%), el LiquidArray® (5 centros, el 5,3%), la PCR a tiempo real (5 centros, el 5,3%), la secuenciación (5 centros, el 5,3%), la inmunocromatografía (3 centros, el 3,2%), las pruebas bioquímicas (2 centros, el 2,1%) y la PCR-RFLP (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	48	51,0
Hibridación inversa	21	22,3
Espectrometría de masas + hibridación inversa	5	5,3
LiquidArray®	5	5,3
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	4	4,2
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	2	2,1
Secuenciación	2	2,1
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	1	1,1

MB324

Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas + PCR a tiempo real	1	1,1
Espectrometría de masas + secuenciación	1	1,1
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,1
Hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,1
Secuenciación + características morfo-culturales	1	1,1
Secuenciación + PCR-RFLP	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 (47,8%), seguido de las tiras de hibridación inversa GenoType Mycobacterium CM de Hain/Bruker (25,6%) y del MALDI-TOF VITEK[®] MS de bioMérieux (11,1%). El conjunto de las marcas informadas se muestra en la tabla 4. Respecto a estas marcas, hay que señalar que tanto el sistema Anyplex[™] MTB/NTM de Seegene como las tiras GenoType MTBC de Hain detectan únicamente el complejo *M. tuberculosis*.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	43	47,8	97,7
GenoType Mycobacterium CM (Hain, Bruker)	23	25,6	100,0
MALDI-TOF (VITEK [®] MS)	10	11,1	100,0
FluoroType [®] Mycobacteria (Hain, Bruker)	5	5,6	100,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain, Bruker)	4	4,4	100,0
INNO-LiPA [®] Mycobacteria (Fujirebio)	3	3,3	100,0
Anyplex [™] MTB/NTM (Seegene) ^a	1	1,1	100,0
GenoType MTBC (Hain, Bruker) ^a	1	1,1	100,0
Total	90	100,0	98,9

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

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 93 centros que informaron *M. kansasii*. De ellos 49 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 44 antibiogramas.

MB324

La técnica mayoritaria fue la microdilución (33 centros, el 75,0% de las respuestas con antibiograma), seguida de la dilución en medio líquido (7 centros, el 15,9%) y de las tiras de gradiente de concentración (6 centros, el 13,6%). El conjunto de los métodos empleados se detalla en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	31	70,5
Dilución en medio líquido / concentración crítica	4	9,1
Tira de gradientes de concentración	3	6,8
Dilución medio líquido + tira de gradientes de concentración	2	4,5
Dilución en medio líquido + microdilución	1	2,3
Tira de gradientes de concentración + microdilución	1	2,3
No informa	2	4,5
Total	44	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destacan el panel de microdilución de Sensititre™, que fue usado por 29 centros (65,9%), seguido del equipo automatizado BACTEC™ MGIT (5 centros, el 11,3%) y de las tiras de Etest® de bioMérieux (4 centros, el 9,1%). Hubo 3 participantes (6,8%) que no aportaron información acerca de la marca comercial (los tres remitieron la cepa a un centro externo para antibiograma). 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)	29	65,9
BD BACTEC™ MGIT™	5	11,3
Etest® (bioMérieux)	4	9,1
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	2,3
VersaTREK™ (Thermo Fisher)	1	2,3
Fabricación propia	1	2,3
No informa ^a	3	6,8
Total	44	100,0

^aMétodos: 1 microdilución y 2 no informan.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Respecto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 44 laboratorios que lo realizaron, 36 (81,8%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que otros 7 (15,9%) manifestaron haber seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y el participante restante (2,3%) se basó en los publicados en la bibliografía. Llama la atención que algunos centros respondan con criterios EUCAST para antibióticos que no disponen de 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	36	81,8
EUCAST	7	15,9
Bibliografía	1	2,3
Total	44	100,0

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 17 antibióticos diferentes, de los cuales 12 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	35	34 (97,2)	0	1 (2,8)	0	0
Ciprofloxacino	26	9 (34,6)	14 (53,9)	3 (11,5)	0	0
Claritromicina	38	38 (100,0)	0	0	0	0
Cotrimoxazol	22	3 (13,6)	0	18 (81,8)	1 (4,6)	0
Doxiciclina	18	3 (16,7)	9 (50,0)	6 (33,3)	0	0
Estreptomina	15	0	0	11 (73,3)	4 (26,7)	0

MB324

Etambutol	20	8 (40,0)	0	9 (45,0)	3 (15,0)	0
Isoniazida	20	11 (55,0)	0	5 (25,0)	4 (20,0)	0
Linezolid	31	31 (100,0)	0	0	0	0
Moxifloxacin	34	32 (94,2)	1 (2,9)	1 (2,9)	0	0
Rifabutina	24	24 (100,0)	0	0	0	0
Rifampicina	41	41 (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 para todos los antibióticos ensayados, con la excepción del ciprofloxacino, antibiótico en el que se observó una mayor diversidad de interpretaciones entre los participantes. En base a la CMI del valor asignado del ciprofloxacino (2 µg/mL-intermedio según CLSI-), con una dilución superior sería interpretado como resistente y con una dilución inferior sería sensible.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 94 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa con resultados analizables, 82 (87,2%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 5 (5,3%) indicaron que sí lo habían empleado y los 7 restantes (7,5%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Un centro recomendó tratamiento combinado principalmente con rifampicina, etambutol e isoniazida. Otro centro señaló que se trataba de una cepa de *M. kansasii* del genotipo 1.

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

Madrid, 25 de noviembre de 2024




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

MB324

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.

MB324