

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL (MB-1/16)

En el Análisis de Resultados del presente control se analizan 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 la muestra a través de ensayos realizados tras la siembra de los tubos de Löwenstein-Jensen y tras su envío, asegurando así la validez de la misma.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, quienes 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 única cepa en medio de Löwenstein-Jensen. La micobacteria había sido aislada de un paciente varón de 41 años de edad que había sido diagnosticado de una linfocitopenia idiopática de células T CD4. El paciente había ingresado en su hospital de área por presentar un síndrome febril sin foco, de hacía aproximadamente tres semanas de evolución. La exploración física mostraba un regular estado general, abdomen blando y depresible y ligera hepato-esplenomegalia. También se objetivaron adenopatías supraclaviculares y laterocervicales bilaterales. La fiebre en el momento del ingreso era de 38,4°C. Se realizó una biopsia de adenopatía supraclavicular mediante punción aspirativa con aguja fina (PAAF) y se enviaron muestras al Servicio de Microbiología para estudio de bacterias, hongos y micobacterias. Los cultivos bacteriológicos y fúngicos resultaron negativos pero a los 16 días de incubación creció, en medio de cultivo líquido, 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.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y  
Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

## VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia que se empleó para el análisis comparativo fue *Mycobacterium kansasii*. Esta identificación se obtuvo mediante hibridación inversa (GenoType *Mycobacterium* CM, Hain Lifescience) y se confirmó por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica de referencia (valor asignado) fueron obtenidos por microdilución con el sistema comercial Sensititre® (Thermo Scientific) y se muestran en la tabla 1. Los criterios empleados para la interpretación de los mismos fueron los del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) correspondientes a *M. kansasii*.

**Tabla 1. Valor asignado de referencia para el antibiograma.**

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>
Etambutol	4	S
Moxifloxacino	0,25	S
Linezolid	2	S
Amikacina	4	S
Rifabutina	0,25	S
Claritromicina	0,25	S
Ciprofloxacino	1	S
Rifampicina	≤0,12	S

<sup>a</sup>S: sensible.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 106 centros inscritos a este control, de los que respondieron 96. Uno de ellos comentó que no disponía de reactivos para identificar micobacterias atípicas, con lo que hubo 95 respuestas con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 89,6%. Este porcentaje fue similar al del último control de micobacterias, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* (84,9%) y al del control MB-1/14, en el que también se remitió una cepa de *M. kansasii* (88,0%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuesta óptima la identificación de especie *M. kansasii* (incluyendo las identificaciones *M. kansasii* grupo 1 y *M. kansasii* genotipo I), y como aceptable la de *M. kansasii* / *Mycobacterium gastri* por la elevada similitud genética que presenta el subtipo IV de *M. kansasii* con *M. gastri*. De hecho, algunos sistemas comerciales no diferencian entre ambas especies.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

Como puede observarse en la tabla 2, la inmensa mayoría de los centros (el 93,7%) identificó correctamente la especie, de los cuales un 10,5% informó el genotipo. Hubo otro centro (1,0%) que informó *M. kansasii* / *M. gastri*, por lo que el porcentaje de acierto total fue del 94,7%. El resto de los centros (5,3%) tan sólo realizaron una aproximación genérica como micobacteria no tuberculosa.

**Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.**

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium kansasii</i>	79	83,2
<i>M. kansasii</i> genotipo 1	10	10,5
<i>Mycobacterium</i> (no <i>Mycobacterium tuberculosis</i> )	5	5,3
<i>M. kansasii</i> / <i>Mycobacterium gastri</i>	1	1,0
Total	95	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

Las técnicas empleadas mayoritariamente por los participantes fueron los métodos moleculares, destacando, en primer lugar, las pruebas de hibridación inversa, que se usaron, bien en solitario o bien combinadas con otro método (inmunocromatografía, PCR a tiempo real, sondas moleculares, PCR-RFLP, espectrometría de masas, pruebas bioquímicas o secuenciación) por 57 de los centros (60,0%). A continuación, le sigue la espectrometría de masas, usada por 19 participantes (20,0%), y las sondas moleculares, empleadas por 14 centros (14,7%). El conjunto de todos los métodos empleados por los participantes queda reflejado en la tabla 3.

Respecto a los cinco participantes que realizaron la identificación de *Mycobacterium no tuberculosis*, cuatro de ellos utilizaron una inmunocromatografía para la detección del complejo *M. tuberculosis*, mientras que el centro restante realizó una PCR a tiempo real para el complejo *M. tuberculosis*. Por último, de los 95 centros que enviaron la hoja de respuesta con datos analizables, 4 (4,2%) no aportaron información sobre el método empleado debido a que enviaron la cepa a un centro externo y no disponían de dicha información.

**Tabla 3. Métodos utilizados para la identificación.**

Método	Número	%
Hibridación inversa	29	30,5
Espectrometría de masas	15	15,7
Hibridación inversa + inmunocromatografía	8	8,4
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	5	5,3
Sonda	5	5,3
Sonda + hibridación inversa	4	4,2
Hibridación inversa + PCR-RFLP	3	3,1
Inmunocromatografía	3	3,1
Oligocromatografía	3	3,1
Secuenciación	3	3,1
Espectrometría de masas + hibridación inversa + secuenciación	2	2,1

Hibridación inversa + características morfo-culturales	2	2,1
Sonda + hibridación inversa + PCR-RFLP	2	2,1
Espectrometría de masas + secuenciación	1	1,1
Hibridación inversa + espectrometría de masas	1	1,1
PCR a tiempo real	1	1,1
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	1	1,1
Secuenciación + características morfo-culturales	1	1,1
Sonda + hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,1
Sonda + inmunocromatografía	1	1,1
No informa	4	4,2
<b>Total</b>	<b>95</b>	<b>100,0</b>

<sup>a</sup>PCR: reacción en cadena de la polimerasa; RFLP: *restriction fragment length polymorphism*.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio de las tiras de hibridación inversa de GenoType *Mycobacterium* CM y AS de Hain Lifescience (el 48,3% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales). A continuación, le siguen el MALDI-TOF de Bruker (18,0%), las tiras de hibridación inversa INNO-LiPA® de Fujirebio (11,2%) y las sondas de ácidos nucleicos Accuprobe® de Gen-Probe®, bioMérieux (6,7%). Todos estos sistemas moleculares obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie *M. kansasii*, si bien hubo un centro que realizó el MALDI-TOF de Bruker que informó *M. kansasii* / *M. gastri*. Obviamente, las diferentes técnicas comerciales de inmunocromatografía empleadas y el GenXpert® aportaron resultados negativos para *M. kansasii*, ya que detectan únicamente el complejo *M. tuberculosis*. La totalidad de las marcas empleadas se muestra en la tabla 4.

**Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Método comercial	Número	% uso	% acierto
GenoType <i>Mycobacterium</i> (Hain) <sup>a</sup>	43	48,3	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	16	18,0	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	10	11,2	100,0
Accuprobe® (Gen-Probe®, bioMérieux)	6	6,7	100,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	3	3,4	100,0
BD MGIT™ TBc (Becton Dickinson)	2	2,3	0,0
SD Boline TB Ag MPT64 (Standard Diag.)	2	2,3	0,0
GeneXpert® (Cepheid)	1	1,1	0,0
MALDI-TOF (Bruker / VITEK® MS)	1	1,1	100,0
No informa <sup>b</sup>	5	5,6	100,0
<b>Total</b>	<b>89</b>	<b>100,0</b>	<b>93,3</b>

<sup>a</sup>Se han agrupado GenoType *Mycobacterium* CM y AS. <sup>b</sup>Incluye hibridación inversa (3) y sonda (2).

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

El estudio de sensibilidad fue realizado por 45 (47,4%) de los 95 centros que enviaron la hoja de respuesta con resultado evaluable. Las técnicas mayoritarias fueron la dilución en medio líquido y la microdilución, realizadas cada una de ellas por 14 centros (el 31,1% de las respuestas con antibiograma), y empleándose como método único por el 28,9%. Las tiras de gradiente de concentración fueron utilizadas por 10 centros (22,2%), el 11,1% de forma única. La totalidad de los métodos empleados se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Dilución en medio líquido	13	28,9
Microdilución	13	28,9
Tira gradiente de concentración	5	11,1
Proporciones + tira gradiente de concentración	2	4,5
Dilución medio líquido + tira gradiente de concentración	1	2,2
Proporciones	1	2,2
Tira gradiente de concentración + disco-placa	1	2,2
Tira gradiente concentración + proporciones + microdilución	1	2,2
No informa	8	17,8
Total	45	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, destacan el sistema automatizado BACTEC™ MGIT™ 960 de Becton-Dickinson, usado por el 29,2% de los participantes, seguido del panel de microdilución Sensititre™ (25,0%), y de las tiras de gradiente de concentración E-test® de bioMérieux (14,6%). Como ya sucedía en otros controles de micobacterias no tuberculosas, hubo un considerable porcentaje de laboratorios (22,9%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, de los cuales la gran mayoría de ellos remitieron la cepa a un centro externo de referencia para realizar el estudio de sensibilidad (tabla 6).

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.**

Marca	Número	%
BACTEC™ MGIT™ (Becton-Dickinson)	14	29,2
Sensititre™	12	25,0
E-test® (bioMérieux)	7	14,6
Manual <sup>a</sup>	4	8,3
No informa	11	22,9
Total	48	100,0

<sup>a</sup>Incluye método proporciones (3) y microdilución (1).

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

En cuanto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 45 laboratorios que realizaron el antibiograma, 33 (73,3%) emplearon los criterios del CLSI, otros 4 (8,9%) los publicados en la bibliografía, 3 (6,6%) informaron criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), 2 (4,5%) los criterios del CLSI y de la bibliografía, y otro (2,2%) los criterios del CLSI y del EUCAST. Por último, 2 centros (4,5%) no informan de esta premisa (tabla 7).

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

Marca	Número	%
CLSI	33	73,3
Bibliografía	4	8,9
EUCAST	3	6,6
CLSI + Bibliografía	2	4,5
CLSI + EUCAST	1	2,2
No especifican	2	4,5
Total	45	100,0

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 24 antibióticos diferentes, aunque en la tabla 8 sólo se muestran los informados por 10 o más participantes.

**Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Número	Categorización <sup>a</sup>			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Amikacina	32	19 (59,4)	4 (12,5)	9 (28,1)	0
Ciprofloxacino	16	13 (81,3)	0	3 (18,7)	0
Claritromicina	35	35 (100,0)	0	0	0
Cotrimoxazol	10	5 (50,0)	0	5 (50,0)	0
Estreptomina	26	2 (7,7)	0	19 (73,1)	5 (19,2)
Etambutol	35	24 (68,6)	0	11 (31,4)	0
Isoniacida	32	11 (34,4)	0	15 (46,9)	6 (18,7)
Linezólida	23	21 (91,3)	0	0	2 (8,7)
Moxifloxacino	19	19 (100,0)	0	0	0
Pirazinamida	12	0	0	12 (100,0)	0
Rifabutina	12	12 (100,0)	0	0	0
Rifampicina	42	39 (92,9)	2 (4,8)	1 (2,3)	0

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)

Como se puede observar, existe una alta concordancia entre los laboratorios participantes y el valor asignado en cuanto a la sensibilidad de la cepa frente a todos los antimicrobianos ensayados. Las mayores discrepancias se observaron con la amikacina, sin asociarse a ningún método o marca en concreto.

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 todos los casos los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo resistente el valor asignado) fueron considerados como no aceptables por parte del Programa CCS.

### UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

De los 95 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 76 (80,0%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 7 indicaron que sí lo habían empleado (7,4%) y los 12 restantes (12,6%) lo usaron parcialmente.

### COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Cuatro laboratorios que no informaron estudio de sensibilidad comentaron que, en caso de una muestra clínica, enviarían la cepa a su centro de referencia para antibiograma, mientras que otros cuatro centros comentaron explícitamente que habían derivado la cepa a un centro externo para el estudio de sensibilidad, comentando uno de ellos que no había recibido los resultados de sensibilidad antes de finalizar el plazo de respuesta.

Tres participantes añadieron que *M. kansasii* presenta resistencia de bajo nivel a la isoniazida, con lo que a concentraciones de 0,1-0,4 µg/mL era resistente a la isoniazida y a concentraciones de 1 µg/mL ya era sensible; si bien, uno de ellos mencionó que no había puntos de corte para la isoniazida en esta especie.

Otros 3 centros realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento combinado con rifampicina más isoniazida y etambutol, hasta 12 meses después del último cultivo negativo. Por último, 2 centros comentaron que tuvieron problemas técnicos al realizar el antibiograma de micobacterias.

Madrid, 20 de febrero de 2017

### El Coordinador del Programa de Control de Calidad SEIMC

**Nota:** Si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.

**Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: [ccs@seimc.org](mailto:ccs@seimc.org)