

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-2/16

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 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

La micobacteria remitida había sido aislada de una paciente de 64 años de edad, que era seguida en la consulta de Neumología por presentar, en los dos meses previos, un cuadro de tos con escasa expectoración de predominio matutino, cierta astenia, y ligera disminución de peso. Como antecedentes de interés, destacaba que era fumadora de 10 cigarrillos/día, y relataba un aumento de su disnea que era patente a medianos esfuerzos. La sintomatología no había mejorado, después de varias pautas de tratamiento antibiótico. Los resultados microbiológicos de las muestras de esputo remitidas no habían sido significativos. A la exploración, la paciente presentaba regular aspecto general, con disminución del murmullo vesicular en ambos campos pulmonares y crepitantes basales, especialmente en campo pulmonar izquierdo. Se realizó una placa de tórax que evidenciaba cavidad e infiltrado en língula. El TAC mostraba una lesión cavitada en lóbulo inferior izquierdo y bronquiectasias múltiples bilaterales con compromiso de las partes blandas peribronquiales. Se decidió realizar una fibrobroncoscopia y se tomó una muestra de lavado broncoalveolar que fue remitida al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y estudio de micobacterias, aislándose a los 15 días de incubación la micobacteria que fue objeto de este control.

Se solicitó a los centros 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. Entreplanta. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium avium*. Esta identificación se obtuvo mediante hibridación inversa (GenoType *Mycobacterium* CM, Hain Lifescience) y espectrometría de masas (MALDI-TOF, Bruker), y fue confirmada 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 al complejo *M. avium*.

Tabla 1. Valor asignado de sensibilidad antibiótica (consenso de expertos)

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
Claritromicina	2	S
Moxifloxacino	8	R
Linezolid	4	S

^aS: sensible; R: resistente.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 106 centros inscritos a este control, de los que respondieron 95. Uno de ellos comentó que la identificación de micobacterias se realizaba en su laboratorio de referencia, por lo que hubo 94 respuestas con resultados valorables. Ello supone un porcentaje de participación real del 88,7%, similar al del último control de micobacterias (89,6%), en el que se envió una cepa de *Mycobacterium kansasii*.

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como óptima la identificación de especie *M. avium*, y como aceptable la del complejo *M. avium*.

La gran mayoría de los centros (el 75,5%) identificó correctamente la especie, mientras que otros 19 centros (20,2%) informaron el complejo *M. avium*, lo que supone un porcentaje de acierto del 95,7%. El resto de los participantes (4,3%) tan sólo realizaron una aproximación genérica como micobacteria no tuberculosa (tabla 2).

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium avium</i>	71	75,5
Complejo <i>Mycobacterium avium</i>	19	20,2
<i>Mycobacterium</i> (no <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	4	4,3
Total	94	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

Las técnicas más empleadas por los participantes fueron las moleculares, destacando en primer lugar las pruebas de hibridación inversa, que se usaron, de forma única o combinadas con otro método (PCR a tiempo real, sondas moleculares, inmunocromatografía, características morfo-culturales, espectrometría de masas, PCR-RFLP o secuenciación), por 62 de los centros (66,0%). Le sigue en frecuencia la espectrometría de masas, informada por 20 participantes (21,3%), y las sondas moleculares, empleadas por 15 centros (16,0%). El conjunto de los métodos informados por los participantes se muestra en la tabla 3.

Respecto a los cuatro centros que realizaron la identificación de *Mycobacterium no tuberculosis*, dos de ellos utilizaron una sonda molecular para la detección de *M. tuberculosis* y los otros dos emplearon una inmunocromatografía para la detección del complejo *M. tuberculosis*. Por último, cuatro (4,2%) no informaron este dato, tres de ellos debido a que enviaron la cepa a un laboratorio externo que no aportó información al respecto.

Tabla 3. Métodos utilizados para la identificación.

Método	Número	%
Hibridación inversa	30	31,9
Espectrometría de masas	15	16,0
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	8	8,5
Sonda + hibridación inversa	8	8,5
Hibridación inversa + inmunocromatografía	7	7,4
Sonda	5	5,3
Hibridación inversa + características morfo-culturales	3	3,2
Hibridación inversa + espectrometría de masas	2	2,1
Hibridación inversa + PCR-RFLP	2	2,1
Inmunocromatografía	2	2,1
Oligocromatografía	2	2,1
Espectrometría de masas + secuenciación	1	1,1
Espectrometría de masas + sonda	1	1,1
Espectrometría de masas + hibridación inversa + sonda + secuenciación	1	1,1
Hibridación inversa + sonda + PCR a tiempo real	1	1,1
Secuenciación	1	1,1
Secuenciación + características morfo-culturales	1	1,1
No informa	4	4,2
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 de las tiras de hibridación inversa de GenoType *Mycobacterium* CM de Hain Lifescience (el 53,7% respecto al conjunto de las técnicas de

identificación comerciales), seguidas del MALDI-TOF de Bruker (20,4%). Todos estos sistemas comerciales obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie *M. avium*. Respecto a las sondas moleculares Accuprobe®, 2 de los 7 centros que realizaron esta técnica informaron *M. no tuberculosis*, los cuales podrían haber utilizado únicamente sondas para la detección de *M. tuberculosis*, aunque no aportan información al respecto. En cuanto a la inmunocromatografía, únicamente detecta el complejo *M. tuberculosis*, por lo que obviamente aporta resultados negativos para *M. avium*. 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> CM (Hain)	50	53,7	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	19	20,4	100,0
Accuprobe® (Gen-Probe®, bioMérieux)	7	7,5	71,4
INNO-LiPA® (Fujirebio)	7	7,5	100,0
Speed-oligo® <i>Mycobacteria</i> (Vircell)	3	3,3	100,0
BD MGIT™ TBc (Becton Dickinson)	2	2,2	0,0
No informa ^a	5	5,4	100,0
Total	93	100,0	93,3

^aIncluye hibridación inversa (3), sonda (2).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 90 centros que realizaron una identificación mínima de complejo *M. avium*. De ellos, 57 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 33 antibiogramas.

La técnica más empleada fue la microdilución, informada por 13 centros (39,4%), seguida por las tiras de gradiente de concentración, empleadas por 10 centros (30,3%), en el 21,2% de las ocasiones como método único. La totalidad de los métodos empleados se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	13	39,4
Tira gradiente de concentración	7	21,2
Disco-placa	2	6,1
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	2	6,1
Dilución medio líquido	1	3,0
Proporciones + tira de gradientes de concentración	1	3,0
No informa	7	21,2

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

Total	33	100,0
-------	----	-------

Respecto a los equipos comerciales empleados, destaca el panel de microdilución Sensititre® (42,0%), seguido de las tiras de gradiente de concentración E-test® de bioMérieux (29,0%). El conjunto de las marcas empleadas se muestra en la tabla 6. Como ya sucedía en otros controles de micobacterias no tuberculosas, hubo un considerable porcentaje de laboratorios (22,6%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, debido a que remitieron la cepa a un centro externo para la realización del estudio de sensibilidad.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Sensititre® (Thermo Scientific)	13	42,0
E-test® (bioMérieux)	9	29,0
BACTEC™ MGIT™ (Becton-Dickinson)	1	3,2
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	3,2
No informa	7	22,6
Total	31	100,0

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

En cuanto a los criterios utilizados para la interpretación del estudio de sensibilidad, de los 33 laboratorios que realizaron el antibiograma, 22 (66,7%) emplearon los criterios del CLSI, 5 (15,1%) los publicados en la bibliografía, y 3 centros (9,1%) informaron según los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Por último, los tres centros restantes (9,1%) no informan de esta premisa. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 7.

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

Marca	Número	%
CLSI	22	66,7
Bibliografía	5	15,1
EUCAST	3	9,1
No especifican	3	9,1
Total	33	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 22 antibióticos diferentes, aunque tan sólo 7 han sido informados por más de 10 participantes.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Número	Categorización ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Amikacina	15	14 (93,3)	0	0	1 (6,7)
Claritromicina	32	29 (90,6)	1 (3,1)	2 (6,3)	0
Estreptomycin	11	3 (27,3)	0	8 (72,7)	0
Etambutol	14	3 (21,4)	1 (7,2)	9 (64,2)	1 (7,2)
Linezolid	15	14 (93,3)	0	1 (6,7)	0
Moxifloxacino	13	4 (30,8)	2 (15,4)	7 (53,8)	0
Rifampicina	15	1 (6,7)	1 (6,7)	12 (79,9)	1 (6,7)

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

Como se observa en dicha tabla, existe una buena concordancia entre los laboratorios participantes y el valor asignado en cuanto a la sensibilidad de la cepa frente a la claritromicina y linezolid. Sin embargo, en el caso del moxifloxacino, se observa discrepancia entre los diferentes centros, 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 el antibiograma se consideran resultados **NO Aceptables** los **errores máximos** de interpretación (resultado obtenido en la categoría de sensible siendo el valor asignado resistente). Los errores menores y mayores, siempre que no supongan un cambio importante en el tratamiento del microorganismo estudiado, se consideran aceptables.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

De los 94 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 75 (79,8%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo, ocho (8,5%) indicaron que sí lo habían empleado, y diez (10,6%) lo usaron parcialmente. El centro restante (1,1%) envió la hoja de respuesta de forma manual sin aportar información al respecto.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Cuatro centros comentaron que únicamente se recomienda realizar antibiograma para la claritromicina y, en caso de presentar resistencia, habría que estudiar linezolid y moxifloxacino.

Tres 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 tres centros

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

comentaron explícitamente que habían derivado la cepa a un centro externo para el estudio de sensibilidad. Asimismo, otros dos centros comentaron que tuvieron problemas técnicos al realizar el antibiograma de micobacterias.

Por último, 3 centros hicieron recomendaciones terapéuticas, principalmente con tratamiento combinado de claritromicina + etambutol + rifampicina durante 12-18 meses, asociando también estreptomina o amikacina los primeros 2-3 meses.

Nota.- Todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar, así como de lectura interpretada de antibiograma, no serán objeto de evaluación por parte del Programa CCS.

Madrid, 6 de junio de 2017

Concepción Gimeno Cardona

Coordinadora 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.

Nota: Las actividades subcontratadas por el Programa CCS son: el transporte de las muestras, el valor asignado, y los estudios de homogeneidad y estabilidad. Si en un determinado momento, se requiere la subcontratación de otras actividades diferentes a las indicadas anteriormente, serán debidamente informadas.

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

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepantana. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org