

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-3/16

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

En este envío, la micobacteria objeto de control había sido aislada de un paciente de 54 años de edad que se encontraba en diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA) desde hacía 7 meses. Acudió al servicio de Nefrología de su hospital por presentar desde hacía unos días una zona eritematosa alrededor del orificio del catéter peritoneal, con escaso exudado seroso. El paciente comentaba que durante 5-6 días había estado aplicando una pomada tópica con bacitracina, sin que se produjera mejoría en el aspecto de la lesión. Se tomaron muestras del exudado de la herida que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias y se inició tratamiento con otro antibiótico tópico. Se citó al paciente transcurridos 5 días, observándose que la lesión persistía con un aspecto eritematoso, violáceo y un exudado serosanguinolento más abundante, además se observó una lesión satélite, a modo de nódulo en la periferia de la lesión. A los doce días de incubación creció en los medios de cultivo líquidos 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.

VALOR ASIGNADO

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

El valor asignado de referencia para la identificación y empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium fortuitum*. 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 antibiograma) 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 las micobacterias de crecimiento rápido.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.

Antibiótico	CMI (µg/ml)	Categorización ^a
Amikacina	≤1	S
Cefoxitina	32	I
Ciprofloxacino	≤0,12	S
Claritromicina	2	S
Doxiciclina	8	R
Imipenem	4	S
Linezolid	4	S
Moxifloxacino	≤0,25	S
Cotrimoxazol	0,5	S

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

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 106 centros inscritos a este control, de los que respondieron 89. Uno de ellos no emitió ninguna identificación, por lo que hubo 88 respuestas con resultados valorables, siendo el porcentaje real de participación del 83,0%, ligeramente inferior al del último control de micobacterias (88,7%), en el que se envió una cepa de *Mycobacterium avium*. Asimismo, este porcentaje es similar al del control MB-2/13 (86,2%), en el que también se envió una cepa de *M. fortuitum*.

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como óptima la identificación correcta de género y especie *M. fortuitum* o complejo *M. fortuitum*, y como aceptables las siguientes identificaciones: complejo *M. fortuitum* / *peregrinum* y complejo *M. fortuitum* / *chelonae*.

Como puede observarse en la tabla 2, la inmensa mayoría de los centros (96,6%) aportó una identificación aceptable, informando correctamente la especie el 90,9%. El resto de los laboratorios (3,4%) tan sólo realizaron una aproximación genérica como micobacteria no tuberculosa.

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

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium fortuitum</i> / complejo <i>M. fortuitum</i>	80	90,9
Complejo <i>Mycobacterium fortuitum</i> / <i>peregrinum</i>	4	4,6
<i>Mycobacterium</i> (no <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	3	3,4
Complejo <i>M. fortuitum</i> / <i>chelonae</i>	1	1,1
Total	88	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

La técnica más empleada por los participantes (tabla 3) fue la hibridación inversa, que se usó, bien en solitario o bien combinada con otro método (inmunocromatografía, espectrometría de masas, PCR a tiempo real, sonda, características morfo-culturales, PCR-RFLP o pruebas bioquímicas) por 55 de los centros (62,5%). A continuación, le sigue la espectrometría de masas, que fue informada por 22 participantes (25,0%).

Tabla 3. Métodos utilizados para la identificación.

Método	Número	%
Hibridación inversa	32	36,4
Espectrometría de masas	11	12,5
Hibridación inversa + inmunocromatografía	8	9,1
Hibridación inversa + espectrometría de masas	7	8,0
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	5	5,7
Sonda + hibridación inversa	4	4,6
Oligocromatografía	3	3,4
Secuenciación	3	3,4
Espectrometría de masas + secuenciación	2	2,3
Espectrometría de masas + sonda	2	2,3
Inmunocromatografía	2	2,3
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,1
Hibridación inversa + PCR-RFLP ^a	1	1,1
Hibridación inversa + pruebas bioquímicas	1	1,1
Secuenciación + características morfo-culturales	1	1,1
Sonda	1	1,1
Sonda + inmunocromatografía	1	1,1
No informa	3	3,4
Total	88	100,0

^aRFLP: *restriction fragment length polymorphism*.

Respecto a los tres participantes que realizaron la identificación de *Mycobacterium no tuberculosis*, todos ellos emplearon una inmunocromatografía para la detección del complejo *M. tuberculosis*, uno de ellos junto con una sonda molecular. Por último, hubo 3 centros (3,4%) que no informan de esta premisa, debido a que enviaron la cepa a un laboratorio externo y no disponían de la información.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio de las tiras de hibridación inversa GenoType *Mycobacterium* CM de Hain Lifescience (el 55,8% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales), seguidas del MALDI-TOF de Bruker (22,1%). Todos estos sistemas comerciales obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie *M. fortuitum*. Respecto a las sondas moleculares Accuprobe®, uno de los dos centros que informaron esta marca respondió *M. no tuberculosis*, lo que sugiere que podría haber utilizado una sonda para la detección de *M. tuberculosis*, aunque no aporta información al respecto. En cuanto a la inmunocromatografía, únicamente detecta el complejo *M. tuberculosis*, por lo que aportó resultados negativos para *M. fortuitum*. 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)	48	55,8	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	19	22,1	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	7	8,1	100,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	3	3,5	100,0
Accuprobe® (Gen-Probe®, bioMérieux)	2	2,3	50,0
BD MGIT™ TBc (Becton Dickinson)	1	1,2	0,0
SD Biotline TB Ag MPT64 (Standard Diag.)	1	1,2	0,0
No informa ^a	5	5,8	100,0
Total	86	100,0	96,5

^aIncluye hibridación inversa (4), sonda (1).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 85 centros que realizaron una identificación de *M. fortuitum* o de su complejo. De ellos 34 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 51 antibiogramas.

La técnica mayoritaria fueron las tiras de gradiente de concentración, realizadas por 26 centros (el 51,0% de las respuestas con antibiograma), seguidas por la microdilución, empleada por 21 centros (41,2%). La totalidad de los métodos empleados se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Tira gradiente de concentración	23	45,1
Microdilución	19	37,2
Microdilución + tira de gradientes de concentración + disco-placa	2	3,9
Dilución medio líquido	1	2,0
Disco-placa	1	2,0
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	1	2,0
No informa	4	7,8
Total	51	100,0

En cuanto a las marcas comerciales las más empleadas fueron las tiras de gradiente de concentración E-test® de bioMérieux y los paneles de microdilución Sensititre® (37,0%). El conjunto de las marcas empleadas se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma para la obtención de la CMI.

Marca	Número	%
E-test® (bioMérieux)	17	37,0
Sensititre® (Thermo Scientific)	17	37,0
MIC Test Strip (Liofilchem®)	6	13,0
MicroScan (Beckman Coulter)	2	4,3
BACTEC™ MGIT™ (Becton-Dickinson)	1	2,2
Fabricación propia	1	2,2
No informa	2	4,3
Total	46	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 51 laboratorios que realizaron el antibiograma, 33 (64,7%) emplearon los criterios del CLSI, 10 (19,6%) los publicados en la bibliografía, y 6 (11,8%) informaron según criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Por último, los 2 centros restantes (3,9%) no informaron de esta premisa. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 7.

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

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

Marca	Número	%
CLSI	33	64,7
Bibliografía	10	19,6
EUCAST	6	11,8
No especifican	2	3,9
Total	51	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 recibieron resultados correspondientes a 30 antibióticos diferentes, aunque tan sólo 10 de ellos fueron informados por más de 10 centros.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.

Antibiótico	Número	Categorización ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Amikacina	48	47 (97,9)	0	1 (2,1)	0
Cefoxitina	35	5 (14,2)	10 (28,6)	20 (57,2)	0
Ciprofloxacino	42	42 (100,0)	0	0	0
Claritromicina	47	20 (42,6)	7 (14,8)	20 (42,6)	0
Cotrimoxazol	34	20 (58,8)	0	14 (41,2)	0
Doxiciclina	34	0	1 (2,9)	33 (97,1)	0
Imipenem	40	22 (55,0)	8 (20,0)	10 (25,0)	0
Linezolid	38	19 (50,0)	4 (10,5)	15 (39,5)	0
Moxifloxacino	23	22 (95,7)	0	1 (4,3)	0
Tobramicina	18	0	3 (16,7)	15 (83,3)	0

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

Como se puede observar en esta tabla, existe una adecuada concordancia entre los laboratorios participantes y el valor asignado en cuanto a la sensibilidad frente a amikacina, ciprofloxacino, doxiciclina y moxifloxacino. Sin embargo, para el resto de antibióticos recomendados por el CLSI osciló entre el 28,6% y el 58,8%.

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 88 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 72 (81,8%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 8 (9,1%) indicaron que sí lo habían empleado, y otros 8 (9,1%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario (5 centros) se refería a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento combinado con fluoroquinolonas más amikacina durante 4 meses, junto con la retirada del catéter. Tres centros añadieron que *M. fortuitum* presenta resistencia inducible a la claritromicina.

Por último, dos centros especificaron que la cepa control era *M. fortuitum* tipo 1.

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, 7 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. Entreplanta. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org