

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-3/17

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 y 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 cepa de micobacteria en medio de Löwenstein-Jensen. La micobacteria había sido aislada de un paciente de 76 años que acudía a su médico por presentar un cuadro de tos escasamente productiva con aumento de su disnea habitual. Había comenzado hacía mes y medio, sin mejoría clara con tratamiento antibiótico. No refería fiebre ni pérdida de peso ponderada. La auscultación cardiopulmonar mostraba escasos crepitantes bilaterales en ambas bases y tonos cardiacos rítmicos sin soplos. Se decidió recoger tres muestras de esputo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. A los 15 días de incubación creció, a partir del cultivo en medio líquido de una de las muestras, 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.

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue el de *Mycobacterium gordonae*. Esta identificación se obtuvo mediante hibridación inversa (GenoType Mycobacterium CM de Hain Lifescience) y espectrometría de masas (MALDI-TOF de Bruker), y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

No se dispone de valor asignado para el estudio de sensibilidad dado que la micobacteria aislada se considera un contaminante, por lo que el objeto del presente control fue tan sólo la identificación.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 101 centros inscritos a este control, de los que respondieron 96, todos ellos con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 95,0%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* (92,1% de participación), y superior al del control MB-1/15, en el que también se remitió una cepa de *M. gordonae* (la participación fue entonces del 89,6%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad aceptó como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*M. gordonae*), así como *Mycobacterium paragordoniae*, especie estrechamente relacionada. Como se puede observar en la tabla 1, la gran mayoría de los laboratorios (87, el 90,7%) identificaron correctamente la especie de la cepa remitida, mientras que otros 2 laboratorios (2,1%) respondieron *M. paragordoniae*, por lo que el porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 92,8%.

Tabla 1. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium gordonae</i>	87	90,7
Género <i>Mycobacterium</i>	2	2,1
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i>)	2	2,1
<i>Mycobacterium paragordoniae</i>	2	2,1
Micobacteria fotocromógena de crecimiento lento	1	1,0
<i>Mycobacterium goodii</i>	1	1,0
<i>Mycobacterium no tuberculosis</i> de crecimiento rápido	1	1,0
Total	96	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 96 centros que enviaron la hoja de respuesta con datos analizables, hubo 3 (3,1%) que no aportaron información al respecto, recurriendo todos ellos a un laboratorio externo.

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 (PCR a tiempo real, características morfo-culturales, espectrometría de masas, inmunocromatografía,

sondas ó PCR-RFLP) por 60 participantes (62,5%). En segundo lugar, destaca la espectrometría de masas, que fue empleada por 26 laboratorios (27,1%). Respecto a la secuenciación, fue requerida por 6 centros (6,3%). El conjunto de los métodos empleados queda reflejado en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Hibridación inversa	32	33,4
Espectrometría de masas	21	21,9
Hibridación inversa + PCR ^a a tiempo real	10	10,5
Hibridación inversa + características morfo-culturales	4	4,2
Hibridación inversa + espectrometría de masas	3	3,1
Hibridación inversa + inmunocromatografía	3	3,1
Espectrometría de masas + secuenciación	2	2,1
Hibridación inversa + PCR-RFLP ^a	2	2,1
Sonda + hibridación inversa + inmunocromatografía	2	2,1
Inmunocromatografía	2	2,1
Oligocromatografía	2	2,1
Secuenciación	2	2,1
Sonda	2	2,1
Sonda + hibridación inversa	2	2,1
Características morfológicas y culturales	1	1,0
Hibridación inversa + oligocromatografía	1	1,0
Hibridación inversa + secuenciación	1	1,0
Secuenciación + características morfo-culturales	1	1,0
No informa	3	3,1
Total	96	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 59,6% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas), seguidas del MALDI-TOF de Bruker (24,7%). La totalidad de las marcas empleadas se muestra en la tabla 3, mientras que la capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 4. En general, los sistemas comerciales obtuvieron un excelente índice de

aciertos para la identificación de la especie *M. gordonae*, pero en el caso del MALDI-TOF de Bruker, el porcentaje de centros que respondieron esta especie fue sólo del 77,3%, como se detalla en la tabla 4.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
GenoType <i>Mycobacterium</i> CM (Hain)	53	59,6	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	22	24,7	77,3
INNO-LiPA® (Fujirebio)	5	5,6	100,0
Speed-oligo® <i>Mycobacteria</i> (Vircell)	3	3,4	100,0
AccuProbe®	1	1,1	100,0
BD MGIT™ TBc (Becton Dickinson)	1	1,1	0,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	1	1,1	100,0
SD BIOLINE TB Ag (Standard Diagnostics)	1	1,1	0,0
No informa ^a	2	2,3	50,0
Total	89	100,0	91,0

^aIncluye espectrometría de masas (1) y sonda (1).

Tabla 4. Resultados de identificación de *M. gordonae* con los sistemas comerciales más empleados^a.

Sistema	Nº	<i>M. gordonae</i>	<i>M. paragordonae</i>	Género <i>Mycobacterium</i>	<i>M. goodii</i>	<i>M. no tuberculosis</i> crecimiento rápido
GenoType <i>Mycobact.</i>	53	53 (100,0)	0	0	0	0
MALDI-TOF (Bruker)	22	17 (77,3)	1 (4,5)	2 (9,2)	1 (4,5)	1 (4,5)
INNO-LiPA®	5	5 (100,0)	0	0	0	0
Speed-oligo® <i>Mycobact.</i>	3	3 (100,0)	0	0	0	0

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

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 89 centros que realizaron una identificación de *M. gordonae* o *M. paragordonae*. De ellos, tan sólo 6 participantes (6,7%) realizaron estudio de sensibilidad. De los 83 laboratorios restantes, 32 informaron en sus comentarios, que no procedía realizarlo, ya que *M. gordonae* no se consideraba patógeno.

Respecto a los seis centros que informaron un estudio de sensibilidad, un laboratorio (16,7%) utilizó las tiras de gradiente de concentración de E-test® de bioMérieux, mientras que los cinco centros restantes (83,3%) remitieron

la cepa a un laboratorio externo para la realización del antibiograma y no informan del método ni de la marca empleada (tabla 5).

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Tira de gradientes de concentración	1	16,7
No informa	5	83,3
Total	6	100,0

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

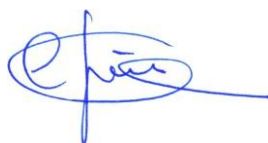
De los 96 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 88 (91,7%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, otros 3 (3,1%) indicaron que sí lo habían empleado, y otros 5 (5,2%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario más frecuente (33 centros), como ya se ha mencionado, era que *M. gordonae* es una micobacteria ambiental, que había crecido únicamente en una de las tres muestras de esputo, por lo que podía considerarse un contaminante y no estaba indicado hacer su estudio de sensibilidad.

Hubo cuatro centros que respondieron en su hoja de respuesta *M. gordonae* que comentaron explícitamente que, mediante MALDI-TOF, obtuvieron la identificación *M. paragordona*.

Madrid, 1 de junio de 2018

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

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 el transporte de las muestras, el valor asignado (consenso de expertos), y los estudios de homogeneidad y estabilidad de las muestras provenientes de cada uno de los lotes, siguiendo una estricta programación de tareas. 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 17043, las actividades subcontratadas que afectan al valor asignado y a los estudios de homogeneidad 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.