

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-1/18

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 25 años, que acudía a la consulta de Neumología, remitido por su médico de familia, por presentar desde hacía dos meses un cuadro de astenia y tos escasamente productiva, acompañada de cierta sensación distérmica de predominio vespertino, pero no termometrada. Como antecedentes de interés, relataba que había sido diagnosticado de un cuadro de tuberculosis pulmonar, del que había sido tratado correctamente y curado. En la radiografía de tórax se objetivaban imágenes con infiltrados alveolares y un espacio cavitado en lóbulo superior derecho que había aumentado de tamaño con respecto a una radiografía previa realizada hacía mes y medio. En el momento de la exploración, presentaba febrícula de 37,1°C y ligeros crepitantes en campo pulmonar derecho a la auscultación. Se recogieron tres muestras de esputo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y de micobacterias. La baciloscopia fue negativa en las tres muestras, pero a los 14 días se aisló, en medio de cultivo líquido, 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 empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium tuberculosis*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante hibridación inversa (GenoType MTBC de Hain Lifescience), y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos por dilución en medio líquido con los reactivos comerciales BD BACTEC™ MGIT™ 960 Sire y PZA Kits 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*) correspondientes al complejo *M. tuberculosis*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
Isoniacida	0,1	S
Rifampicina	1,0	S
Etambutol	5,0	S
Pirazinamida	100	S
Estreptomina	1,0	S

^aS: sensible.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 101 centros inscritos a este control, de los que respondieron 96, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación es del 95,0%. Este porcentaje es ligeramente superior tanto al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium lentiflavum* (92,1% de participación), como también al del control MB-2/17, en el que se remitió una cepa de *M. tuberculosis* (también con otro 92,1% de participación).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuesta válida la identificación de género y especie (*M. tuberculosis*), así como las respuestas complejo *M. tuberculosis* y *M. tuberculosis* / *M. canetti*.

Como puede observarse en la tabla 2, algo más de la mitad de los centros (el 54,2%) informó el complejo *M. tuberculosis*, mientras que un 40,6% informó correctamente la especie *M. tuberculosis*, y un 5,2% respondió *M. tuberculosis* / *M. canetti*, por lo que el porcentaje de acierto total alcanzó el 100,0% de todos los participantes.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	52	54,2

<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	39	40,6
<i>M. tuberculosis</i> / <i>M. canetti</i>	5	5,2
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, hubo un centro (1,0%) que no aportó información al respecto, recurriendo a un laboratorio externo.

La técnica empleada mayoritariamente por los participantes fue la hibridación inversa, usada, bien en solitario o bien combinada con otro método (inmuncromatografía, PCR a tiempo real, sondas moleculares, características morfo-culturales, espectrometría de masas, *spoligotyping*, PCR-RFLP, o pruebas bioquímicas) por 42 de los centros (43,8%). A continuación, le siguen la inmuncromatografía (30 participantes, el 31,3%) y la PCR a tiempo real (23 participantes, el 24,0%). El conjunto de los métodos empleados se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Hibridación inversa	21	22,0
Inmuncromatografía	19	19,8
PCR ^a a tiempo real	16	16,7
Hibridación inversa + inmuncromatografía	8	8,4
Espectrometría de masas	7	7,3
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	7	7,3
Sonda	4	4,2
Oligocromatografía	3	3,2
Sonda + hibridación inversa	2	2,1
Espectrometría de masas + oligocromatografía	1	1,0
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,0
Hibridación inversa + espectrometría de masas	1	1,0
Hibridación inversa + inmuncromatografía + <i>spoligotyping</i>	1	1,0
Hibridación inversa + PCR-RFLP ^a	1	1,0
Hibridación inversa + pruebas bioquímicas	1	1,0
Pruebas bioquímicas + sonda + inmuncromatografía	1	1,0
Hibridación inversa + sonda + inmuncromatografía	1	1,0

No informa	1	1,0
Total	96	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa; RFLP: *restriction fragment length polymorphism*.

En cuanto a las marcas comerciales, hubo un predominio de las tiras de hibridación inversa de GenoType *Mycobacterium* de Hain Lifescience, empleadas en su conjunto (agrupando los *kits* MTBC, CM y MTBDR*plus*) por 43 centros (el 46,2% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales). A continuación, le siguen el equipo GeneXpert® de Cepheid (12,9%) y las tiras de inmunocromatografía BD MGIT™ TBc de Becton Dickinson. Todos los sistemas comerciales empleados obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie o del 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 MTBC (Hain)	20	21,5	100,0
GeneXpert® (Cepheid)	12	12,9	100,0
BD MGIT™ TBc (Becton Dickinson)	9	9,7	100,0
GenoType <i>Mycobacterium</i> CM (Hain)	9	9,7	100,0
GenoType MTBDR <i>plus</i> (Hain)	7	7,5	100,0
GenoType <i>Mycobacterium</i> (Hain) ^a	7	7,5	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	6	6,5	100,0
SD BIOLINE (Alere, Abbott)	6	6,5	100,0
AccuProbe® (Hologic®)	4	4,3	100,0
Speed-oligo® <i>Mycobacteria</i> (Vircell)	3	3,2	100,0
TBCheck MPT64 (Hain)	3	3,2	100,0
Anyplex™ II MTB/MDR/XDR (Seegene)	2	2,1	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	2	2,1	100,0
Capilia™ TB-Neo (Tauns)	1	1,1	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	1	1,1	100,0
No informa ^b	1	1,1	100,0
Total	93	100,0	100,0

^aNo especifican el *kit* de GenoType utilizado.

^bInmunocromatografía

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 96 centros que realizaron la identificación de *M. tuberculosis* o de su complejo. De ellos, 15 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 81 antibiogramas.

La técnica más utilizada fue la dilución en medio líquido, informada por 74 centros (el 91,4% de las respuestas con antibiograma), empleándose como método único por el 87,7%. A continuación, le siguen las tiras de gradiente de concentración, empleadas por 6 centros (7,4%), el 5,0% de forma única. La totalidad de los métodos empleados se detalla en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Dilución en medio líquido / concentración crítica / proporciones	71	87,7
Tira de gradientes de concentración	4	5,0
Dilución en medio líquido + microdilución	1	1,2
Microdilución	1	1,2
Proporciones + tiras de gradientes de concentración	1	1,2
Tira de gradientes de concentración + proporciones + microdilución	1	1,2
No informa	2	2,5
Total	81	100,0

Respecto a los sistemas comerciales empleados, destaca el equipo automatizado BACTEC™ MGIT™ 960 de Becton Dickinson, que fue usado por el 82,0% de los participantes. Del resto, 7 (9,0%) realizaron dilución en caldo con el sistema VersaTREK™ de Thermo Fisher Scientific, y otros 3 (3,8%) utilizaron las tiras de gradiente de concentración E-test® de bioMérieux. El conjunto de las marcas empleadas en el estudio de sensibilidad se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
BACTEC™ MGIT™ (Becton-Dickinson)	64	82,0
VersaTREK™ (Thermo Fisher Scientific)	7	9,0
E-test® (bioMérieux)	3	3,8

bioMérieux (método proporciones)	1	1,3
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	1,3
Oxoid (tira de gradiente de concentración)	1	1,3
Sensititre™	1	1,3
Total	78	100,0

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 81 laboratorios que lo realizaron, 54 (66,7%) emplearon los criterios del CLSI, otros 16 (19,7%) informaron según criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y los 11 restantes (13,6%) según los publicados en la bibliografía. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 7.

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

Criterio	Número	%
CLSI	54	66,7
EUCAST	16	19,7
Bibliografía	11	13,6
Total	81	100,0

Se solicitó a los participantes que categorizaran el valor obtenido tal cual en su antibiograma (halo inhibición o CMI) y, en el caso de que quisieran realizar una lectura interpretada de los resultados para alguno de los antibióticos, que ésta la consignaran en el apartado de comentarios y no en la tabla de respuesta.

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 11 antibióticos diferentes, pero tan sólo 5 fueron informados por 10 o más participantes. Como se puede observar en dicha tabla, existe una excelente concordancia entre los laboratorios participantes y el valor asignado frente a todos los antimicrobianos ensayados.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Nº	Categorización ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Isoniacida	81	80 (98,8)	0	1 (1,2)	0
Rifampicina	81	80 (98,8)	0	1 (1,2)	0
Estreptomicina	80	79 (98,8)	1 (1,2)	0	0
Etambutol	80	79 (98,8)	1 (1,2)	0	0
Pirazinamida	64	61 (95,3)	0	3 (4,7)	0

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

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 96 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 90 (93,8%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 2 (2,1%) indicaron que sí lo habían empleado y otros 4 (4,1%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Doce centros indicaron que no detectó ninguna mutación de resistencia mediante la hibridación inversa, utilizando el *kit* GenoType MTBDRplus (Hain). Cuatro centros recomendaron tratamiento antituberculoso durante 6 meses.

Cuatro laboratorios comentaron que, de tratarse de una muestra clínica, habrían remitido la cepa a su centro de referencia para antibiograma, mientras que otro laboratorio señaló que el antibiograma informado se había enviado a su centro de referencia.

Y, por último, dos centros señalaban que el paciente había desarrollado una recurrencia de su tuberculosis previa, por una probable falta de adherencia a la mediación; mientras que, otros dos centros comentaron que sería recomendable realizar un tipado molecular de las dos cepas de *M. tuberculosis* de este paciente.

Madrid, 26 de septiembre de 2018




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.