

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-1/20

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 a partir de una paciente de 59 años que acudía a la consulta de Neumología, remitida por su médico de cabecera por presentar, desde hacía aproximadamente dos meses, un cuadro de malestar general, astenia, anorexia, febrícula vespertina y pérdida de peso que no había respondido al tratamiento antibiótico habitual. Además, en la última semana el cuadro se acompañaba de tos escasamente productiva, con esputos ligeramente hemoptoicos. Como antecedentes de interés, relataba que una compañera de la oficina donde trabajaba había sido diagnosticada de tuberculosis pulmonar hacía un año y medio. En la exploración, se auscultaron ligeros crepitantes en campo pulmonar derecho y en la radiografía de tórax, se observó una cavitación en lóbulo superior derecho. Se recogieron tres muestras de esputo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y de micobacterias. La baciloscopia fue positiva en dos de ellas, y a los 12 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 de referencia empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium tuberculosis*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) e hibridación inversa y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

MB-1/20

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos por dilución en medio líquido (concentración crítica) 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*) del documento M24-A2 correspondientes al complejo *M. tuberculosis*.

**Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos**

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>
		CLSI (M24-A2-2011)
Isoniacida	0,1	S
Rifampicina	1,0	S
Etambutol	5,0	S
Estreptomicina	1,0	S
Pirazinamida	100	S

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

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 100 centros inscritos a este control, de los que respondieron 93, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación fue del 93,0%. Este porcentaje es similar tanto al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium gordonae* (95,0% de participación), como también al del control MB-2/19, en el que también se remitió una cepa de *M. tuberculosis* (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* / *Mycobacterium canettii*, por la similitud existente entre las especies de micobacterias que componen este complejo.

Como puede observarse en la tabla 2, algo menos de la mitad de los centros (47,3%) respondieron complejo *M. tuberculosis*, mientras que otro 46,2% informaron especie *M. tuberculosis*, y un 6,5% respondieron *M. tuberculosis* / *M. canettii*; por lo que el porcentaje de acierto total alcanzó el 100,0%.

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

Identificación	Número	%
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	44	47,3
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	43	46,2
<i>M. tuberculosis</i> / <i>Mycobacterium canetti</i>	6	6,5
Total	93	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

La técnica empleada mayoritariamente por los 93 participantes fue la hibridación inversa, usada, bien en solitario o bien combinada con otro método (inmunocromatografía, PCR a tiempo real, espectrometría de masas, pruebas bioquímicas, sondas moleculares, *spoligotyping*, o PCR-RFLP) por 41 de los centros (44,1%). A continuación, le siguen la inmunocromatografía (34 participantes, el 36,6%), la PCR a tiempo real (24 participantes, el 25,8%) y la espectrometría de masas (16 centros, el 17,2%). El conjunto de los métodos empleados se detalla en la tabla 3.

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

Método	Número	%
Inmunocromatografía	19	20,4
PCR <sup>a</sup> a tiempo real	15	16,1
Hibridación inversa	13	14,0
Espectrometría de masas	9	9,7
Hibridación inversa + inmunocromatografía	9	9,7
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	7	7,5
Hibridación inversa + espectrometría de masas	3	3,2
Hibridación inversa + pruebas bioquímicas	3	3,2
Hibridación inversa + sonda	3	3,2
Espectrometría de masas + oligocromatografía	2	2,1
Pruebas bioquímicas + inmunocromatografía	2	2,1
Espectrometría de masas + Bioquímica + PCR a tiempo real	1	1,1
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	1	1,1
Hibridación inversa + inmunocromatografía + <i>spoligotyping</i>	1	1,1
Hibridación inversa + PCR-RFLP <sup>a</sup>	1	1,1
Oligocromatografía	1	1,1

MB-1/20

PCR a tiempo real + inmunocromatografía	1	1,1
Secuenciación	1	1,1
Sonda + hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,1
Total	93	100,0

<sup>a</sup>PCR: 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, Mycobacterium CM y MTBDR*plus*) por 38 centros (el 42,2% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales). A continuación, le siguen el *kit* de inmunocromatografía BD MGIT™ TBc y el MALDI-TOF de Bruker (informados cada uno por el 12,2% de los centros) y los cartuchos Xpert® de Cepheid (11,1%). Todos estos sistemas comerciales 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)	22	24,5	100,0
BD MGIT™ TBc (Becton Dickinson)	11	12,2	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	11	12,2	100,0
Xpert® (Cepheid)	10	11,1	100,0
SD BIOLINE (Abbott)	8	8,9	100,0
GenoType Mycobacterium CM (Hain)	7	7,8	100,0
GenoType Mycobacterium (Hain) <sup>a</sup>	5	5,6	100,0
GenoType MTBDR <i>plus</i> (Hain)	4	4,5	100,0
Anyplex™ II MTB/MDR (Seegene)	2	2,2	100,0
Anyplex™ II MTB/MDR/XDR (Seegene)	2	2,2	100,0
Capilia TB-Neo (Tauns)	2	2,2	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	2	2,2	100,0
TBCheck MPT64 (Hain)	2	2,2	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	1	1,1	100,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	1	1,1	100,0
Total	90	100,0	100,0

<sup>a</sup>No especifican el *kit* de GenoType utilizado.

MB-1/20

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 93 centros que realizaron la identificación de *M. tuberculosis* o de su complejo. De ellos, 18 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad con lo que se analizaron los resultados de 75 participantes.

La técnica más utilizada fue la dilución en medio líquido, informada por 72 centros (el 96,0% de las respuestas con estudio de sensibilidad), empleándose como método único en el 92,0% de las ocasiones. A continuación, le siguen las tiras de gradiente de concentración, empleadas por 5 centros (el 6,7%), un 2,7% de forma única. La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 5.

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

Método	Número	%
Dilución en medio líquido / concentración crítica / proporciones	69	92,0
Dilución en medio líquido + tiras de gradientes de concentración	3	4,0
Tira de gradientes de concentración	2	2,7
Microdilución	1	1,3
Total	75	100,0

Respecto a los sistemas comerciales empleados, destaca el equipo automatizado BACTEC™ MGIT™ 960 de Becton Dickinson, que fue usado por el 85,4% de los participantes. Del resto, un 9,3% realizaron dilución en caldo con el sistema VersaTREK™ de Thermo Fisher Scientific, mientras que 2 centros (2,7%) 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	85,4
VersaTREK™ (Thermo Fisher Scientific)	7	9,3
E-test® (bioMérieux)	2	2,7
Sensititre™ (Thermo Fisher)	1	1,3
No informa <sup>a</sup>	1	1,3
Total	75	100,0

<sup>a</sup>Métodos: proporciones (1).

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

En cuanto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del estudio de sensibilidad, de los 75 laboratorios que lo realizaron, 41 (54,7%) informaron que habían usado los criterios de CLSI, 21 centros (28,0%) comentaron que habían usado los criterios de EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y los 13 restantes (17,3%) habían seguido los criterios 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	41	54,7
EUCAST	21	28,0
Bibliografía	13	17,3
Total	75	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 12 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 <sup>a</sup>				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Isoniacida	75	75 (100,0)	0	0	0	0
Rifampicina	75	75 (100,0)	0	0	0	0
Etambutol	74	74 (100,0)	0	0	0	0
Estreptomina	72	72 (100,0)	0	0	0	0
Pirazinamida	61	58 (95,2)	1 (1,6)	1 (1,6)	1 (1,6)	0

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

### UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 93 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 83 (89,3%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 4 (4,3%) indicaron que sí lo habían empleado, y 6 (6,4%) lo usaron parcialmente.


### COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Doce centros indicaron que no detectaron ninguna mutación de resistencia mediante la hibridación inversa, utilizando el kit GenoType MTBDRplus de Hain.

Dos centros recomendaron tratamiento antituberculoso durante 6-8 meses.

Por último, cinco laboratorios comentaron que el estudio de sensibilidad informado se había enviado a su centro de referencia, mientras que otros dos centros todavía no habían obtenido el resultado del estudio fenotípico de sensibilidad.

Madrid, 15 de septiembre de 2020



Concepción Gimeno Cardona

**Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC**



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

**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.

MB-1/20

**Nota:** las actividades subcontratadas por el Programa CCS son la tipificación de las cepas, necesaria para que desde el Programa se establezca el valor asignado a partir del consenso de resultados de dos laboratorios expertos,. 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/IEC 17043, las actividades subcontratadas que afectan a los resultados de las pruebas solicitadas y a los estudios de homogeneidad y estabilidad 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.

MB-1/20