

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-2/20

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 57 años, que fue remitida a su neumólogo de zona por presentar un cuadro de casi tres meses de evolución de astenia, febrícula de predominio vespertino, tos escasamente productiva y ligero incremento de su disnea habitual, sin mejoría a pesar del tratamiento antibiótico. Como antecedentes patológicos de interés, la paciente era fumadora de 15 cigarrillos/día, y había sido diagnosticada de enfermedad pulmonar obstructiva crónica en grado leve-moderado. En el momento de la exploración, presentaba febrícula de 37,5°C, ligera taquipnea, y sibilancias en ambos campos pulmonares a la auscultación. La radiografía de tórax mostraba un infiltrado cavitado en el lóbulo superior izquierdo. Se obtuvieron tres muestras de esputo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, micológico y de micobacterias. A pesar de que la baciloscopia había resultado negativa, a los 12 días de incubación en medio líquido se obtuvo el crecimiento de la micobacteria que fue el 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.

MB-2/20

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium kansasii*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante hibridación inversa y fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos por microdilución 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 a *M. kansasii*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M24-A2-2011)
Amikacina	2	S
Ciprofloxacino	2	S
Claritromicina	0,25	S
Cotrimoxazol	>8/152	R
Estreptomina	4	NI ^b
Etambutol	4	S
Isoniacida	4	NI ^b
Linezolid	2	S
Moxifloxacino	≤0,12	S
Rifabutina	≤0,25	S
Rifampicina	0,25	S

^aS: sensible, R: resistente, NI: no interpretada.

^bSegún CLSI: la isoniacida y estreptomina pueden usarse clínicamente, si bien no hay puntos de corte que permitan establecer la interpretación de sensibilidad/resistencia para las micobacterias no tuberculosas. En estos casos se puede informar la CMI sin su interpretación.

En base a las recomendaciones de la American Thoracic Society 2007, en pacientes que no han sido previamente tratados sólo se debería realizar la sensibilidad a rifampicina. En aquellos pacientes en los que la rifampicina sea resistente se debería realizar la sensibilidad para los fármacos de segunda línea: rifabutina, etambutol, isoniacina, claritromicina, fluoroquinolonas, amikacina y sulfonamidas.

MB-2/20

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 100 centros inscritos a este control, de los que respondieron 85, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación es del 85,0%. Este porcentaje es inferior al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* (93,0% de participación), pero similar al del control MB-4/18, en el que también se remitió una cepa de *M. kansasii* (89,1% de participación).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuesta óptima la identificación correcta de género y especie *M. kansasii*, y se consideró aceptable la respuesta *M. kansasii*/*M. gastrii*.

La gran mayoría de los centros (79, el 92,9%) identificó correctamente la especie, de los cuales un 3,4% informó el genotipo. Adicionalmente, hubo otros 2 centros (2,4%) que respondieron *M. kansasii* / *Mycobacterium gastrii*. El conjunto de todas las identificaciones informadas se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium kansasii</i>	76	89,4
<i>M. kansasii</i> genotipo 1	3	3,4
<i>Mycobacterium kansasii</i> / <i>Mycobacterium gastrii</i>	2	2,4
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	2,4
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i>)	2	2,4
Total	85	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 85 centros que enviaron la hoja de respuesta, hubo 2 de ellos (2,3%) que no aportaron información al respecto, recurriendo ambos a un laboratorio externo.

Las dos técnicas mayoritariamente empleadas por los participantes, usadas en solitario o bien combinadas junto con otro método, fueron la espectrometría de masas y la hibridación inversa, usadas cada una por 40 de los centros participantes (el 47,1%). Respecto a la secuenciación, únicamente fue requerida por 3 de los laboratorios (3,6%). El conjunto de los métodos empleados se muestra en la tabla 3.

MB-2/20

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	32	37,6
Hibridación inversa	16	18,8
Hibridación inversa + PCR ^a a tiempo real	7	8,2
Sonda + hibridación inversa	5	5,9
Hibridación inversa + espectrometría de masas	4	4,7
Hibridación inversa + inmunocromatografía	3	3,6
PCR a tiempo real	2	2,3
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	2	2,3
Secuenciación	2	2,3
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	1	1,2
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas + hibridación inversa	1	1,2
Espectrometría de masas + secuenciación	1	1,2
Espectrometría de masas + sonda	1	1,2
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,2
Hibridación inversa + PCR-RFLP ^a	1	1,2
Oligocromatografía	1	1,2
Pruebas bioquímicas	1	1,2
Pruebas bioquímicas + características morfo-culturales	1	1,2
Pruebas bioquímicas + sonda + inmunocromatografía	1	1,2
No informa	2	2,3
Total	85	100,0

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

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (38,3%, respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas) junto con las tiras de hibridación inversa GenoType *Mycobacterium* CM de Hain Lifescience (37,0%). El conjunto de las marcas empleadas se muestra en la tabla 4. Respecto a estas marcas informadas, hay que señalar que tanto las tiras GenoType MTBC como los cartuchos Xpert® detectan únicamente el complejo *M. tuberculosis*.

MB-2/20

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	31	38,3	93,6
GenoType Mycobacterium CM (Hain)	30	37,0	96,7
MALDI-TOF (VITEK® MS)	5	6,2	100,0
GenoType Mycobacterium (Hain) ^a	4	5,0	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	3	3,7	100,0
GenoType MTBC (Hain) ^b	2	2,5	50,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	1	1,2	100,0
Xpert® (Cepheid) ^b	1	1,2	0,0
No informa ^c	4	4,9	75,0
Total	81	100,0	92,6

^aNo especifican el *kit* de GenoType utilizado.

^bEstos *kits* no permiten la detección de *M. kansasii*.

^cMétodos empleados: espectrometría de masas (1), hibridación inversa (1), pruebas bioquímicas (1), PCR a tiempo real (1).

En la tabla 5, se señala la capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa remitida. Al analizar los sistemas comerciales que son capaces de detectar *M. kansasii*, todos ellos obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de esta especie, con algunos errores aislados.

Tabla 5. Resultados de identificación de *M. kansasii* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Número	<i>M. kansasii</i>	Complejo <i>M. tuberculosis</i>	<i>M. kansasii</i> / <i>M. gastri</i>	<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i>)
MALDI-TOF (Bruker)	31	29 (93,6)	1 (3,2)	1 (3,2)	0
GenoType Mycobacterium CM	30	29 (96,7)	0	1 (3,3)	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	5	5 (100,0)	0	0	0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	3	3 (100,0)	0	0	0
GenoType MTBC	2	1 (50,0)	0	0	0

MB-2/20

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 79 centros que informaron *M. kansasii*. De ellos 38 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 41 antibiogramas.

Las técnicas mayoritarias fueron la microdilución (21 centros, el 51,2% de las respuestas con antibiograma), seguida de la dilución en medio líquido (12 centros, el 29,3%) y de las tiras de gradiente de concentración (8 centros, el 19,5%). El conjunto de los métodos empleados se detalla en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	20	48,8
Dilución en medio líquido / concentración crítica / proporciones	9	22,0
Tira de gradientes de concentración	4	9,8
Dilución medio líquido + tira de gradientes de concentración	2	4,8
Dilución medio líquido + tira gradientes concentración + disco-placa	1	2,4
Tira de gradientes de concentración + microdilución	1	2,4
No informa	4	9,8
Total	41	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destacan el panel de microdilución de Sensititre™, usado por 17 centros (el 41,4% que realizaron antibiograma), seguido del equipo automatizado BACTEC™ MGIT™ 960 de Becton Dickinson (10 centros, el 24,4%) y de las tiras de E-test® de bioMérieux (4 centros, el 9,8%). Hubo 10 participantes (24,4%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, de los cuales siete remitieron el antibiograma a un centro externo. El conjunto de las marcas empleadas para el estudio de sensibilidad se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	17	41,4
BACTEC™ MGIT™ (Becton Dickinson)	10	24,4
E-test® (bioMérieux)	4	9,8
No informa ^a	10	24,4
Total	41	100,0

^aMétodos: microdilución (3), proporciones (2), tiras de gradiente de concentración (1), no informado (4).

MB-2/20

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 41 laboratorios que lo realizaron, 26 (63,4%) emplearon los criterios del CLSI, otros 7 (17,1%) informaron según criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y los 8 restantes (19,5%) según los publicados en la bibliografía. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 8.

Tabla 8. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Criterio	Número	%
CLSI	26	63,4
Bibliografía	8	19,5
EUCAST	7	17,1
Total	41	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 9 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, pero tan sólo 13 fueron informados por 10 o más participantes.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	28	21 (75,0)	0	7 (25,0)	0	0
Ciprofloxacino	17	14 (82,4)	2 (11,8)	1 (5,8)	0	0
Claritromicina	31	31 (100,0)	0	0	0	0
Cotrimoxazol	11	8 (72,7)	0	3 (27,3)	0	0
Estreptomina	18	3 (16,6)	0	11 (61,1)	4 (22,3)	0

MB-2/20

Etambutol	26	20 (77,0)	0	3 (11,5)	3 (11,5)	0
Etionamida	10	7 (70,0)	0	0	3 (30,0)	0
Isoniacida	22	11 (50,0)	0	9 (40,9)	2 (9,1)	0
Linezolid	19	18 (94,7)	0	0	1 (5,3)	0
Moxifloxacino	17	17 (100,0)	0	0	0	0
Pirazinamida	10	0	0	10 (100,0)	0	0
Rifabutina	14	14 (100,0)	0	0	0	0
Rifampicina	39	38 (97,4)	0	0	1 (2,6)	0

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

Como se puede observar en dicha tabla, existe una excelente concordancia entre los laboratorios participantes y el valor asignado frente a la claritromicina, linezolid, moxifloxacino, rifabutina y rifampicina, y algo menor también para el ciprofloxacino y la amikacina. Sin embargo, la concordancia para el resto de antituberculosos del antibiograma de referencia ha sido menor, sin asociarse a ningún método o marca en concreto.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 85 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa con resultados analizables, 72 (84,7%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 6 (7,1%) indicaron que sí lo habían empleado y los 7 restantes (8,2%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Cuatro centros recomendaron tratamiento combinado principalmente con rifampicina, etambutol e isoniazida (o claritromicina) durante 12 meses.

Por último, cinco laboratorios señalaron que el antibiograma informado se había enviado a su centro de referencia, mientras que otros tres laboratorios comentaron que, de tratarse de una muestra clínica, habrían remitido la cepa a su centro de referencia para antibiograma.

Madrid, 19 de noviembre de 2020




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

MB-2/20

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 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-2/20