

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-4/20

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 en un paciente de 57 años, fumador de 15 cigarrillos/día, que acudía a su médico por presentar un cuadro de tos ligeramente productiva con aparición de ligera disnea a medianos esfuerzos de dos semanas de evolución. El paciente no había sufrido pérdida de peso, pero sí una ligera febrícula en los 2-3 días previos a la consulta. A la exploración, se observaba buen estado general, ligera palidez cutánea y la auscultación pulmonar revelaba la existencia de escasos crepitantes bilaterales en las bases. Se le indicó que recogiera tres muestras de esputo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. Se instauró un ciclo de tratamiento antibiótico empírico tras el cual se consiguió mejoría del paciente. 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.

MB-4/20

## VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium gordonae*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante hibridación inversa 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 solo la identificación.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 101 centros inscritos a este control, de los que respondieron 91, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación fue del 90,1%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *M. celatum* (90,0%), aunque ligeramente inferior al del control M-4/19, en el que también se remitió una cepa de *M. gordonae* (95,0%).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad aceptó como respuesta válida la identificación correcta de género y especie (*M. gordonae*), así como *Mycobacterium paragordonae*, especie estrechamente relacionada. Como se puede observar en la tabla 1, más de la mitad de los laboratorios (55, el 60,4%) identificaron la cepa remitida como *M. gordonae*, mientras que otros 35 laboratorios (38,5%) respondieron *M. paragordonae*, por lo que el porcentaje de respuestas aceptables alcanzó el 98,9%.

**Tabla 1. Resultados de la identificación micobacteriana.**

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium gordonae</i>	55	60,4
<i>Mycobacterium paragordonae</i>	35	38,5
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i> )	1	1,1
Total	91	100,0

## MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 91 centros que enviaron la hoja de respuesta con datos analizables, 2 (2,2%) no aportaron información al respecto, recurriendo ambos a un laboratorio externo.

En este control las dos técnicas mayoritariamente utilizadas por los participantes, usadas en solitario o bien combinadas junto con otro método, fueron la espectrometría de masas y la hibridación inversa, empleadas cada una por 43 de los centros participantes (47,3%). Otros métodos informados fueron la PCR a tiempo real (9,9%), la

MB-4/20

secuenciación (7,7%), las sondas moleculares (4,4%), las características morfo-culturales (3,3%), la oligocromatografía (1,1%) y las pruebas bioquímicas (1,1%). El conjunto de los métodos empleados para la identificación queda reflejado en la tabla 2.

**Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.**

Método	Número	%
Espectrometría de masas	36	39,5
Hibridación inversa	20	22,0
Espectrometría de masas + hibridación inversa	9	9,9
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	9	9,9
Espectrometría de masas + secuenciación	4	4,4
Sonda + hibridación inversa	4	4,4
Secuenciación	3	3,3
Características morfo-culturales	1	1,1
Características morfo-culturales + hibridación inversa	1	1,1
Características morfo-culturales + pruebas bioquímicas	1	1,1
Oligocromatografía	1	1,1
No informa	2	2,2
Total	91	100,0

<sup>a</sup> PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (42,9% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas), seguido de las tiras de hibridación inversa de GenoType *Mycobacterium* CM de Hain Lifescience (el 39,3%). La totalidad de las marcas empleadas se muestra en la tabla 3, mientras que la capacidad de los sistemas comerciales más empleados para identificar la cepa se resume en la tabla 4. Todos estos sistemas comerciales obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de las especies *M. gordonae* o *M. paragordonae*.

**Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Método comercial	Número	% uso	% acierto <sup>a</sup>
MALDI-TOF (Bruker)	36	42,9	100,0
GenoType <i>Mycobacterium</i> CM (Hain)	33	39,3	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	8	9,5	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	3	3,5	100,0

MB-4/20

GenoType MTBC (Hain) <sup>b</sup>	1	1,2	100,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain) <sup>b</sup>	1	1,2	100,0
GenoType MTBDRs/ (Hain) <sup>b</sup>	1	1,2	100,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	1	1,2	100,0
Total	84	100,0	100,0

<sup>a</sup>Se han agrupado las identificaciones *M. gordonae* y *M. paragordonae*.

<sup>b</sup>Estos kits no permiten la detección de *M. gordonae*.

**Tabla 4. Resultados de identificación de *M. gordonae* con los sistemas comerciales mayoritarios.**

Sistema	Número	<i>M. gordonae</i>	<i>M. paragordonae</i>
MALDI-TOF (Bruker)	36	4 (11,1)	32 (88,9)
GenoType Mycobacterium CM (Hain)	33	33 (100,0)	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	8	8 (100,0)	0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	3	2 (67,0)	1 (33,0)

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 90 centros que realizaron una identificación de *M. gordonae* o *M. paragordonae*. De ellos, 70 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 20 antibiogramas (el 22,2%).

Las dos técnicas mayoritarias fueron la microdilución (12 centros, el 60,0% de los centros con antibiograma), seguida de las tiras de gradiente de concentración (4 centros, el 20,0%). La totalidad de los métodos empleados se muestra en la tabla 5.

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

Método	Número	%
Microdilución	11	55,0
Tiras de gradientes de concentración	2	10,0
Dilución en medio líquido / proporciones	1	5,0
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	5,0
Microdilución + disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	5,0
No informa	4	20,0
Total	20	100,0

MB-4/20

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destaca el panel de microdilución de Sensititre™, usado por 11 de los centros (55,0% de los que realizaron antibiograma). Hubo 7 participantes (35,0%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, de los cuales 6 remitieron el antibiograma a un centro externo. El conjunto de las marcas empleadas para el estudio de sensibilidad se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.**

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	11	55,0
BACTEC™ MGIT™ (Becton Dickinson)	1	5,0
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	5,0
No informa <sup>a</sup>	7	35,0
Total	20	100,0

<sup>a</sup>Métodos: tiras de gradiente de concentración (2), microdilución (1), no informado (4).

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Respecto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 20 laboratorios que lo realizaron, 9 (45,0%) emplearon los criterios del CLSI, 6 (30,0%) informaron que habían seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y otros 4 (20,0%) según los publicados en la bibliografía. Por último, hubo 1 centro (5,3%) que envió el antibiograma a un centro externo y no informó de esta premisa. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 7.

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

Criterio	Número	%
CLSI	9	45,0
EUCAST	6	30,0
Bibliografía	4	20,0
No informa	1	5,0
Total	20	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.

MB-4/20

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 23 antibióticos diferentes, de los cuales 9 fueron informados por 10 o más participantes.

**Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos**

Antibiótico	Nº	Categorización <sup>a</sup>				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	13	12 (92,3)	0	0	1 (7,7)	0
Ciprofloxacino	12	10 (83,4)	0	1 (8,3)	1 (8,3)	0
Claritromicina	13	12 (92,3)	0	0	1 (7,7)	0
Estreptomina	10	8 (80,0)	0	0	2 (20,0)	0
Etambutol	15	14 (93,3)	0	0	1 (6,7)	0
Linezolida	13	12 (92,3)	0	0	1 (7,7)	0
Moxifloxacino	13	12 (92,3)	0	0	1 (7,7)	0
Rifabutina	11	10 (90,9)	0	0	1 (9,1)	0
Rifampicina	18	16 (88,8)	0	1 (5,6)	1 (5,6)	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 91 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa con resultados analizables, 80 (87,9%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 9 (9,9%) indicaron que sí lo habían empleado y los 2 restantes (2,2%) lo usaron parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El comentario más frecuente (19 centros) fue que *M. gordonae* era 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 ni había puntos de corte establecidos para esta especie.

MB-4/20

Hubo dos centros que comentaron que, mediante el MALDI-TOF de Bruker, habían obtenido la identificación *M. paragordoniae*. Por último, otros dos participantes comentaron que enviaron la cepa a un centro externo para antibiograma.

Madrid, 27 de abril de 2021



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 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-4/20