

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-1/21

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 micobacteria sembrada en medio de Löwenstein-Jensen. La cepa había sido aislada a partir de una mujer de 38 años que acudía al servicio de Urgencias de su Hospital por presentar un cuadro de fiebre alta, malestar general y dolor e hinchazón del área superior derecha de la pared torácica de hacía dos días de evolución. Como antecedentes de interés, la paciente se había sometido a una intervención quirúrgica para resección de un lipoma de 7 cm en pared torácica derecha tres semanas antes. A la exploración, presentaba regular estado general, fiebre termometrada de 38,5°C y ligera palidez muco-cutánea. La zona de alrededor de la herida quirúrgica, que ya había cicatrizado, se mostraba edematizada, eritematosa y con cierta crepitación. Al hacer ligera presión sobre el área afecta, se objetivaba la salida de un exudado sero-sanguinolento que parecía que supuraba a través de una fístula en la pared torácica, 3 cm por debajo de la herida quirúrgica. Se decidió su ingreso en el hospital y se inició tratamiento antibiótico empírico tras tomar una muestra del exudado. La muestra fue remitida al Servicio de Microbiología para tinción de Gram y cultivo bacteriológico y micológico, que fueron negativos. Sin embargo, la tinción de Ziehl-Neelsen demostró la presencia de bacilos ácido-alcohol-resistentes. A los 7 días de incubación, el cultivo micobacteriológico permitió el aislamiento de 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-1/21

VALOR ASIGNADO

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

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos por microdilución con un panel comercial 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 a las micobacterias de rápido crecimiento.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M62-1st ed-2018)
Amikacina	≤1	S
Cefoxitina	16	S
Ciprofloxacino	≤0,125	S
Claritromicina	≤0,06	S
Cotrimoxazol	4/76	R
Doxiciclina	>16	R
Imipenema	≤2	S
Linezolid	2	S
Minociclina	>8	R
Moxifloxacino	≤0,25	S
Tigeciclina	1	NI

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

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 99 centros inscritos a este control, de los que respondieron 92, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación fue del 92,9%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium gordonae* (90,1% de participación).

MB-1/21

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como óptima la identificación de especie *M. peregrinum*, y como aceptables el complejo *Mycobacterium fortuitum* y el complejo *M. fortuitum* / *M. peregrinum*, por la similitud existente entre ambas especies.

Como puede observarse en la tabla 2, la gran mayoría de los centros (92,4%) aportaron una identificación aceptable, de los cuales un 59,8% identificó correctamente la especie de la cepa remitida. El resto de los laboratorios informaron el complejo o la especie *Mycobacterium fortuitum*.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium peregrinum</i>	55	59,8
Complejo <i>Mycobacterium fortuitum</i>	21	22,8
Complejo <i>Mycobacterium fortuitum</i> / <i>M. peregrinum</i>	9	9,8
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	7	7,6
Total	92	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 92 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, la técnica empleada mayoritariamente fue la espectrometría de masas que fue usada, bien en solitario o bien combinada con otro método (hibridación inversa, secuenciación, pruebas bioquímicas o PCR a tiempo real), por 63 de los centros (68,5%). A continuación, le siguen la hibridación inversa (35 centros, el 38,0%), la secuenciación (9 centros, el 9,8%), la PCR a tiempo real (7 centros, el 7,6%), las pruebas bioquímicas (3 centros, el 3,2%), las características morfo-culturales (2 centros, el 2,2%) y la oligocromatografía (1 centro, el 1,1%). El conjunto de los métodos empleados para la identificación queda reflejado en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Espectrometría de masas	46	50,0
Hibridación inversa	11	12,0
Espectrometría de masas + hibridación inversa	10	10,8
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	6	6,5
Espectrometría de masas + secuenciación	4	4,3

MB-1/21

Secuenciación	3	3,2
Sonda + hibridación inversa	2	2,2
Espectrometría de masas + hibridación inversa + pruebas bioquímicas	1	1,1
Espectrometría de masas + hibridación inversa + secuenciación	1	1,1
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,1
Hibridación inversa + PCR a tiempo real + espectrometría de masas	1	1,1
Hibridación inversa + secuenciación	1	1,1
Oligocromatografía	1	1,1
Pruebas bioquímicas + características morfo-culturales	1	1,1
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	1	1,1
No informa	2	2,2
Total	92	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (55,8%, respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas), seguido de las tiras de hibridación inversa GenoType Mycobacterium CM de Hain Lifescience (30,2%). La totalidad de las marcas empleadas se muestra en la tabla 4, mientras que la capacidad de los sistemas comerciales empleados mayoritariamente para identificar la cepa se resume en la tabla 5. Hay que señalar que las tiras GenoType Mycobacterium CM y AS de Hain por sí solas no permiten la detección de la especie *M. peregrinum*.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	48	55,8	91,7
GenoType Mycobacterium CM (Hain) ^a	26	30,2	15,4
MALDI-TOF (VITEK® MS)	9	10,5	11,1
GenoType Mycobacterium AS (Hain) ^b	2	2,3	0,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	1	1,2	100,0
Total	86	100,0	58,1

^aNo permiten la detección de la especie *M. peregrinum* con certeza.

^bNo permite la detección de la especie *M. peregrinum* ni del complejo *M. fortuitum*.

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

Sistema	Número	<i>M. peregrinum</i>	Complejo <i>M. fortuitum</i>	Complejo <i>M. fortuitum</i> / <i>M. peregrinum</i>	<i>M. fortuitum</i>
MALDI-TOF (Bruker)	48	44 (91,7)	0	3 (6,2)	1 (2,1)
GenoType Mycobacterium CM	26	4 (15,4)	14 (53,8)	5 (19,2)	3 (11,6)
MALDI-TOF (VITEK® MS)	9	1 (11,1)	5 (55,6)	0	3 (33,3)

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 85 centros que realizaron una identificación de la especie *M. peregrinum* o del complejo *M. fortuitum*. De ellos, 38 no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 47 antibiogramas.

Las dos técnicas mayoritarias fueron la microdilución (empleada por 27 centros, el 57,4% de las respuestas con antibiograma), seguida de las tiras de gradiente de concentración (14 centros, el 29,8%). La totalidad de los métodos empleados se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	26	55,3
Tiras de gradientes de concentración	10	21,3
Dilución en medio líquido / proporciones	3	6,4
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	2	4,3
Microdilución + tiras de gradiente de concentración	1	2,1
Proporciones + tiras de gradiente de concentración	1	2,1
No informa	4	8,5
Total	47	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destacan el panel de microdilución de Sensititre™, usado por 26 centros (el 56,5% que realizaron antibiograma), seguido de las tiras de Etest® de bioMérieux (9 centros, el 19,6% con antibiograma). Hubo 5 participantes (10,9%) que no aportaron información acerca de la marca comercial utilizada, de los cuales 4 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)	26	56,5
Etest® (bioMérieux)	9	19,6
MIC Test Strip (Liofilchem®)	3	6,5
BACTEC™ MGIT™ (Becton Dickinson)	2	4,3
VersaTREK™ (ThermoFisher)	1	2,2
No informa ^a	5	10,9
Total	46	100,0

^aMétodos: tiras de gradiente de concentración (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 47 laboratorios que lo realizaron, 27 (57,4%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que 11 (23,4%) informaron que habían seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) y otros 7 (14,9%) según los publicados en la bibliografía. Por último, hubo 2 centros (4,3%) que enviaron la cepa a un centro externo para el antibiograma y no informaron de esta premisa. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 8.

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

Criterio	Número	%
CLSI	27	57,4
EUCAST	11	23,4
Bibliografía	7	14,9
No informan	2	4,3
Total	47	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).

MB-1/21

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 36 antibióticos diferentes, de los cuales 12 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	45	44 (97,8)	0	0	1 (2,2)	0
Cefoxitina	32	32 (100,0)	0	0	0	0
Ciprofloxacino	41	40 (97,6)	0	1 (2,4)	0	0
Claritromicina	44	43 (97,7)	0	1 (2,3)	0	0
Cotrimoxazol	32	21 (65,6)	0	11 (34,4)	0	0
Doxiciclina	32	2 (6,2)	3 (9,4)	27 (84,4)	0	0
Imipenema	38	34 (89,5)	1 (2,6)	3 (7,9)	0	0
Linezolid	41	32 (78,0)	8 (19,5)	0	1 (2,5)	0
Minociclina	11	1 (9,1)	1 (9,1)	9 (81,8)	0	0
Moxifloxacino	35	34 (97,2)	0	1 (2,8)	0	0
Tigeciclina	10	9 (90,0)	0	0	1 (10,0)	0
Tobramicina	22	14 (63,6)	5 (22,8)	2 (9,1)	1 (4,5)	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 amikacina, cefoxitina, ciprofloxacino, claritromicina y moxifloxacino; y algo menor para el imipenem, linezolid y minociclina. Sin embargo, la concordancia al cotrimoxazol ha sido baja. Ello se debe a diferencias de una dilución entre la categoría de sensible (CMI de 2 µg/mL) y la de resistente (CMI de 4 µg/mL). Remarcar que la interpretación de los resultados aportados en el valor asignado está referido a la versión M62-1st ed-2018.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 92 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa con resultados analizables, 77 (83,7%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 7 (7,6%) indicaron que sí lo habían empleado y los 8 restantes (8,7%) lo usaron parcialmente.

MB-1/21

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Siete centros realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con la asociación de una fluoroquinolona con amikacina, claritromicina o tigeclina durante 4 meses junto con desbridamiento quirúrgico de la lesión.

Cuatro centros señalaron que la especie *M. peregrinum* formaba parte del grupo *M. fortuitum*. Dos centros comentaron que habían realizado la lectura de la claritromicina a los 14 días.

Por último, dos laboratorios mencionaron que el antibiograma informado se había enviado a un centro externo, 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, 14 de julio de 2021



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 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-1/21