

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-2/23

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-Jenseny 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 57 años, que presentaba desde su juventud como antecedentes clínicos de interés un asma extrínseca moderado en tratamiento con corticoides inhalados y broncodilatadores (salbutamol) a demanda. Fue remitida a la consulta de otorrinolaringología por presentar otorrea continua no maloliente y otalgia de oído izquierdo de hacía 4 meses de evolución, que no había mejorado a pesar de diversos tratamientos, siendo el último gotas óticas de ciprofloxacino 3 mg/ml y acetónido de fluocinolona 0,25 mg/mL junto con acetilcisteína 200 mg/8 horas. A la exploración, mediante el otoscopio, se objetivaba la perforación del tímpano y la existencia de tejido fibrinoso blando adherido a la membrana. Se realizó miringoplastia, objetivándose una mucosa de oído medio inflamada y muy edematosa. En audiometría, se observó una hipoacusia mixta derecha y se informó de afectación del VI par craneal izquierdo, por lo que se inició tratamiento con prednisona 1 mg/kg peso/día. Se realizó RMN, hallándose cambios inflamatorios y ocupación completa del oído medio y mastoides, sin erosiones óseas ni imágenes sugestivas de tumoración. En los análisis se obtuvo un resultado positivo para quantiferón. Se tomaron muestras del oído medio, que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico, micológico y de micobacterias. A los 14 días de incubación, se obtuvo crecimiento en medio líquido de la micobacteria que fue objeto de este control.

MB-2/23

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 el de *Mycobacterium tuberculosis* / *Mycobacterium canettii*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) e hibridación inversa. La identificación de la especie *M. tuberculosis* fue confirmada por secuenciación del ARN ribosómico 16S.

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos mediante concentración crítica con un sistema 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 al complejo *M. tuberculosis*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M62-1st ed-2018)
Isoniacida	≤0,1	S
Rifampicina	≤1	S
Pirazinamida	≤100	S
Etambutol	≤5	S
Estreptomicina	≤1	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 similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycolicibacterium canariasense* (93,1% de participación). Así mismo, este porcentaje es similar al del control MB-2/22, en el que también se remitió una cepa de *M. tuberculosis* (96,0% de participación real).

MB-2/23

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuestas válidas las identificaciones *M. tuberculosis* / *M. canettii*, el complejo *M. tuberculosis* y las especies *M. tuberculosis* y *M. canettii*, por la cercanía genética entre ambas especies (que hace que uno de los sistemas comerciales más frecuentemente empleados no llegue a diferenciarlas).

Como puede observarse en la tabla 2, más de la mitad de los centros (59, el 61,5%) informaron el complejo *M. tuberculosis*, mientras que hubo un 31,2% que respondió *M. tuberculosis*, un 6,3% contestó *M. tuberculosis* / *M. canettii* y el 1,0% informó *M. canettii*, por lo que el porcentaje de acierto total alcanzó al 100,0% de los participantes.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	59	61,5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	30	31,2
<i>M. tuberculosis</i> / <i>Mycobacterium canettii</i>	6	6,3
<i>Mycobacterium canettii</i>	1	1,0
Total	96	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

La técnica empleada mayoritariamente por los 96 participantes fue la hibridación inversa, usada, bien en solitario o bien combinada con otro método (inmunocromatografía, PCR a tiempo real, espectrometría de masas, sondas moleculares, pruebas bioquímicas o *spoligo*typing) por 39 de los centros (el 40,6%). A continuación, le siguen la inmunocromatografía (34 participantes, el 35,4%), la espectrometría de masas (25 participantes, el 26,0%) y la PCR a tiempo real (24 participantes, el 25,0%). La totalidad de los métodos empleados se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Hibridación inversa	18	18,8
Inmunocromatografía	18	18,8
Espectrometría de masas	17	17,7
PCR a tiempo real	12	12,5

MB-2/23

Hibridación inversa + inmunocromatografía	6	6,3
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	6	6,3
PCR a tiempo real + inmunocromatografía	5	5,2
Espectrometría de masas + hibridación inversa	4	4,2
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	3	3,1
Sonda + hibridación inversa	2	2,1
Espectrometría de masas + Bioquímica + PCR a tiempo real	1	1,0
Hibridación inversa + inmunocromatografía + <i>spoligotyping</i>	1	1,0
Pruebas bioquímicas	1	1,0
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	1	1,0
Sonda + hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,0
Total	96	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales, hubo un predominio de las tiras de hibridación inversa de Geno Type de Hain Lifescience (Bruker), empleadas en su conjunto (agrupando los *kits* MTBC, MTBDR_{plus}, Mycobacterium CM y MTBDR_s) por 35 centros (el 37,6% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales). A continuación, le siguen el MALDI-TOF de Bruker (19,4%), las tiras de inmunocromatografía Bioline™ TB Ag MPT64 de Abbott (9,6%) y los cartuchos Xpert® de Cepheid (9,6%). Todos estos sistemas comerciales obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie o del complejo *M. tuberculosis*. El conjunto de las marcas empleadas se muestra en la tabla 4. El centro que informó la especie *M. Canettii* empleó una tira de hibridación inversa de Geno Type MTBC de Hain, *kit* que no permite la diferenciación entre *M. tuberculosis* y *M. canettii*.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Geno Type MTBC (Hain, Bruker)	26	28,0	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	18	19,4	100,0
Bioline™ TB Ag MPT64 (Abbott)	9	9,6	100,0
Xpert® (Cepheid)	9	9,6	100,0
BD MGIT™ TBc (Becton Dickinson)	7	7,5	100,0
GenoType MTBDR _{plus} (Hain, Bruker)	5	5,4	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	4	4,3	100,0

MB-2/23

TBCheck MPT64 (Hain, Bruker)	4	4,3	100,0
BD MAX™MDR-TB (Becton Dickinson)	3	3,2	100,0
GenoType Mycobacterium CM (Hain, Bruker)	3	3,2	100,0
Capilia™ TB-Neo (Tauns)	2	2,2	100,0
Allplex™ MTB/MDR/XDRe (Seegene)	1	1,1	100,0
Anyplex™ MTB/NTMe (Seegene)	1	1,1	100,0
GenoType MTBDRs/(Hain, Bruker)	1	1,1	100,0
Total	93	100,0	100,0

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, 23 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad y otro participante no introdujo ningún antibiótico en la aplicación, con lo que se analizaron un total de 72 antibiogramas.

La técnica más utilizada fue la dilución en medio líquido empleada, al menos, por 71 centros (el 98,6% de las respuestas con antibiograma), seguida de las tiras de gradiente de concentración (5 centros, el 6,9%). Hubo un único laboratorio (1,4%) que no informó de esta premisa. 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	65	90,3
Dilución medio líquido + tiras de gradientes de concentración	5	6,9
Dilución en medio líquido + microdilución	1	1,4
No informa	1	1,4
Total	72	100,0

Respecto a los sistemas comerciales empleados, destaca el equipo automatizado BD BACTEC™ MGIT™ 960 de Becton Dickinson, que fue utilizado por todos los 71 centros (el 100,0%) que informaron un sistema comercial para el antibiograma. Este dato se muestra en la tabla 6.

MB-2/23

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
BD BACTEC™ MGIT™ (Becton Dickinson)	71	100,0
Total	71	100,0

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Respecto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 72 laboratorios que lo realizaron, 52 (72,2%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que 13 laboratorios (18,1%) manifestaron el haber seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) y otros 5 participantes (6,9%) se basaron en los publicados en la bibliografía. Por último, hubo 2 participantes (2,8%) que no informaron 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	52	72,2
EUCAST	13	18,1
Bibliografía	5	6,9
No informan	2	2,8
Total	72	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 9 antibióticos diferentes, de los cuales 5 fueron informados por 10 o más participantes.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Estreptomicina	69	68 (100,0)	0	0	0	0
Etambutol	71	70 (100,0)	0	0	0	0
Isoniacida	72	71(100,0)	0	0	0	0
Pirazinamida	63	62 (98,4)	0	1 (1,6)	0	0
Rifampicina	72	72 (100,0)	0	0	0	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 todos los antimicrobianos ensayados.

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, 3 (3,1%) indicaron que sí lo habían empleado y otros 3 (3,1%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Dieciséis centros indicaron que no detectaron ninguna mutación de resistencia a la rifampicina ni a otros fármacos antituberculosos.

Dos laboratorios comentaron que la afectación ótica por *M. tuberculosis* debería tratarse como la tuberculosis pulmonar, con cuádruple terapia con isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol durante 2 meses, seguida de isoniazida y rifampicina hasta completar 6-12 meses.

Madrid, 13 de septiembre de 2023



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

MB-2/23

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-2/23