

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB424

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 como 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 en una mujer de 37 años que presentaba una lesión inflamatoria y dolorosa de 1,5-2 cm de diámetro localizada en la base entre la primera y segunda falange de su mano izquierda. La paciente no tenía antecedentes patológicos de interés, aunque relataba que hacía 20 días se había hecho una herida en la zona de la lesión con un clavo mientras realizaba tareas de bricolaje. Tras dos semanas de tratamiento ambulatorio con diferentes antibióticos y debido al empeoramiento del cuadro clínico, la paciente acudió a urgencias de su hospital de área. A la exploración, la zona afectada presentaba aumento de calor local, aspecto eritematoso, indurado y edematoso, con una Tª de 37,7°C. Se realizó una TAC que mostraba hallazgos compatibles con osteomielitis aguda de 1ª y 2ª falange, formación de un pequeño absceso intraóseo y afectación de las partes blandas circundantes. Se decidió ingresar a la paciente y aumentar la dosis de antibiótico (amoxicilina-clavulánico 2 g/8h) por vía parenteral. Tras 7 días de ingreso y ausencia de respuesta al tratamiento, se realizó desbridamiento quirúrgico de la lesión y se tomaron muestras de tejido y pus que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio micobacteriológico, entre otros, creciendo a los cinco días de incubación 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.

MB424-mod

VALOR ASIGNADO

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

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) se obtuvieron mediante un panel comercial de microdilución y se muestran en la Tabla 1. El consenso de expertos utilizó para la interpretación de los resultados los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) del documento M24-S2, 2ª edición (2023) correspondientes a las micobacterias de crecimiento rápido.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M24S-Ed2-2023)
Amikacina	≤1	S
Cefoxitina	128	R
Ciprofloxacino	0,25	S
Claritromicina	16	R
Cotrimoxazol	≤0,25	S
Doxiciclina	2	I
Imipenem	8	I
Linezolid	2	S
Moxifloxacino	≤0,25	S

^aS: sensible, R: resistente, I: intermedio.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 102 centros inscritos a este control, de los cuales respondieron 99, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación es del 97,1%. Este porcentaje es ligeramente superior al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *M.kansasii* (92,2% de participación real). Así mismo, este porcentaje es también ligeramente superior al del control MB218, en el que también se remitió una cepa de *M. smegmatis* (93,1% de participación real).

IDENTIFICACIÓN

MB424-mod

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuesta válida la identificación correcta de género y especie de *M. smegmatis*. Como puede observarse en la tabla 2, el 89,9% de los centros aportaron una identificación coincidente con el valor asignado, informando correctamente la especie.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	89	89,9
Complejo <i>Mycobacterium fortuitum</i>	5	5,1
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	4	4,0
Micobacteria escotocromógena de crecimiento rápido	1	1,0
Total	99	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este control, la técnica empleada mayoritariamente por los participantes fue la espectrometría de masas, que fue usada, bien en solitario o bien combinada con otro método (hibridación inversa, secuenciación, inmunocromatografía o PCR en tiempo real), por 81 de los centros (81,8%), y en un 67,7% de las ocasiones como único método empleado. A continuación, le siguen la hibridación inversa (22 centros, el 22,2%), la PCR a tiempo real (5 centros, el 5,1%), la secuenciación (5 centros, el 5,1%), el LiquidArray® (3 centros, el 3,0%) y la inmunocromatografía (2 centros, el 2,0%). 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	67	67,7
Espectrometría de masas + hibridación inversa	8	8,1
Hibridación inversa	8	8,1
Hibridación inversa + PCR en tiempo real	4	4,1
Espectrometría de masas + secuenciación	3	3,0
LiquidArray®	3	3,0
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	2	2,0
Hibridación inversa + PCR en tiempo real + espectrometría de masas	1	1,0
Hibridación inversa + secuenciación	1	1,0
Secuenciación	1	1,0

MB424-mod

No informa	1	1,0
Total	99	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (63,9% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas). A continuación, le siguen el MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (12,4%) y las tiras de hibridación inversa GenoType Mycobacterium CM (9,3%) y GenoType Mycobacterium AS (8,3%), ambas de Hain Lifescience. El conjunto de todas las marcas comerciales empleadas se muestra en la Tabla 4. Respecto a estas marcas utilizadas, hay que señalar que tanto las tiras GenoType Mycobacterium CM como las tiras GenoType MTBC no detectan la especie *M. smegmatis*. Del mismo modo, las tiras de inmunocromatografía únicamente detectan el complejo *M. tuberculosis*.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	62	63,9	98,4
MALDI-TOF (VITEK® MS)	12	12,4	100,0
GenoType Mycobacterium CM (Hain) ^a	9	9,3	11,2
GenoType Mycobacterium AS (Hain)	8	8,3	100,0
FluoroType® Mycobacteria (Hain, Bruker)	3	3,1	100,0
BD MGIT™ TBc ^a	1	1,0	100,0
GenoType MTBC (Hain, Bruker) ^a	1	1,0	0,0
INNO-LiPA® Mycobacteria (Fujirebio)	1	1,0	100,0
Total	97	100,0	89,7

^aEstos kits no permiten la detección de *M. smegmatis*.

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. smegmatis*, todos ellos obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de esta especie.

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

Sistema	Número	<i>M. smegmatis</i>	Complejo <i>M. fortuitum</i>	<i>M. fortuitum</i>	Micobacteria escotocromógena de crecimiento rápido
MALDI-TOF (Bruker)	62	61 (98,4)	0	0	1 (1,6)

MB424-mod

MALDI-TOF (VITEK® MS)	12	12 (100,0)	0	0	0
GenoType Mycobacterium CM	9	1 (11,2)	4 (44,4)	4 (44,4)	0
GenoType Mycobacterium AS	8	8 (100,0)	0	0	0
FluoroType® Mycobacteria	3	3 (100,0)	0	0	0

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 89 centros que obtuvieron la identificación de *M. smegmatis*. De ellos, 38 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 51 antibiogramas.

Las técnicas mayoritarias fueron la microdilución, empleada por 36 centros (70,6% de las respuestas con antibiograma), seguida de las tiras de gradiente de concentración (13 centros, el 25,5%). La totalidad de los métodos empleados se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	34	66,6
Tira de gradientes de concentración	10	19,6
Disco-placa + tira de gradientes de concentración	2	3,9
Dilución en medio líquido	1	2,0
Dilución en medio líquido + microdilución	1	2,0
Tira de gradientes de concentración + microdilución	1	2,0
No informa	2	3,9
Total	51	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destacan el panel de microdilución de Sensititre™, que fue usado por 34 centros (el 66,6% que realizaron antibiograma), seguido de las tiras de Etest® de bioMérieux (12 centros, el 23,5%). Hubo 3 participantes (5,9%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, de los que todos ellos remitieron la cepa a un centro externo para antibiograma. El conjunto de las marcas empleadas para el estudio de sensibilidad se muestra en la Tabla 7.

MB424-mod

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Sensititre™ (ThermoScientific)	34	66,6
Etest® (bioMérieux)	12	23,5
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	2,0
Fabricación propia	1	2,0
No informa ^a	3	5,9
Total	51	100,0

^aMétodos: dilución en medio líquido (1), no informa (2).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Respecto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 51 laboratorios que lo realizaron, 44 (86,3%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que otros 5 laboratorios (9,8%) manifestaron haber seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y los 2 participantes restantes (3,9%) se basaron en los publicados en la bibliografía. Llama la atención que algunos centros respondan con criterios EUCAST para los que no existen puntos de corte. Todos estos datos quedan reflejados en la Tabla 8.

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

Criterio	Número	%
CLSI	44	86,3
EUCAST	5	9,8
Bibliografía	2	3,9
Total	51	100,0

Se solicitó a los participantes que categorizaran el valor obtenido tal como 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).

MB424-mod

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 26 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	49	49 (100,0)	0	0	0	0
Cefoxitina	34	16 (47,1)	11 (32,4)	7 (20,5)	0	0
Ciprofloxacino	48	48 (100,0)	0	0	0	0
Claritromicina	48	7 (14,6)	1 (2,1)	40 (83,3)	0	0
Cotrimoxazol	44	44 (100,0)	0	0	0	0
Doxiciclina	43	41 (95,3)	2 (4,7)	0	0	0
Imipenem	45	34 (75,6)	7 (15,5)	4 (8,9)	0	0
Linezolid	43	43 (100,0)	0	0	0	0
Minociclina	15	13 (86,7)	2 (13,3)	0	0	0
Moxifloxacino	39	39 (100,0)	0	0	0	0
Tigeciclina	14	5 (35,7)	0	1 (7,2)	8 (57,1)	0
Tobramicina	33	32 (97,0)	0	0	1 (3,0)	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 para la mayoría de los antibióticos ensayados, con la excepción de cefoxitina, doxiciclina e imipenem. En el caso de la doxiciclina, en base al valor asignado, la cepa presentaba una CMI de 2 µg/mL (sensibilidad intermedia), pero diferencias en una dilución cambiarían la interpretación a sensible (CMI ≤1 µg/mL). En cuanto al imipenem, según el valor asignado, la cepa presentaba una CMI de 8 µg/mL (sensibilidad intermedia), pero diferencias en una dilución cambiarían la interpretación a sensible (CMI ≤4 µg/mL).

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 99 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa con resultados analizables, 89 (89,9%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 3 (3,0%) indicaron que sí lo habían empleado y los 7 restantes (7,1%) lo usaron parcialmente.

MB424-mod

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Dos centros realizaron recomendaciones terapéuticas, principalmente tratamiento combinado con dos fármacos, entre ellos quinolonas con doxiciclina, amikacina o cotrimoxazol. Dos centros comentaron que el cuadro clínico era compatible con una infección por *M. smegmatis*.

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

MODIFICACIONES INFORME

Fecha de modificación: 03/04/2025. Sustituye al AR MB424 del 28/02/2025. Ampliación de los comentarios sobre los resultados de antibiogramas de los participantes.

Madrid, 03 de abril de 2025




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 laboratorios expertos. Si en un momento determinado 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.

MB424-mod

Nota: si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, les rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.