

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB124

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 en un paciente de 67 años, fumador de 30 cigarrillos al día y con hábito enólico, que era remitido al Servicio de Neumología por su médico de atención primaria por presentar un cuadro de 5 semanas de evolución con febrícula vespertina, astenia y anorexia, con discreta pérdida de peso (no cuantificada). Refería tos escasamente productiva y aumento de su disnea habitual que no había cedido con tratamiento antibiótico empírico. El esputo era escaso, de aspecto mucoso, nunca hemoptoico. A la exploración física el paciente presentaba REG con ligera palidez cutáneo-mucosa, temperatura de 37,8 °C y crepitantes de predominio en campo pulmonar derecho. La radiografía de tórax mostraba un infiltrado fibrocavitario en lóbulo superior derecho. El paciente fue ingresado para estudio, con sospecha de tuberculosis pulmonar. Se realizó fibrobroncoscopia y se obtuvieron muestras de broncoaspirado y lavado broncoalveolar, que junto al esputo fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. Se inició tratamiento con antituberculosos de primera línea y a los 15 y 17 días de incubación creció en todas 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.

MB124

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue *Mycobacterium terrae* (actualmente denominado *Mycolicibacter terrae*). Esta identificación de referencia se obtuvo mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) y fue confirmada por secuenciación de un fragmento del gen *hsp65*.

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos por microdilución mediante 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*) del documento M24S 2nd ed (2023) correspondientes a Micobacterias de crecimiento lento diferentes de MAC y *Mycobacterium kansasii*.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M24S-Ed2-2023)
Amikacina	8	S
Ciprofloxacino	0,5	S
Clarithromicina	0,5	S
Cotrimoxazol	2	S
Doxiciclina	>16	R
Linezolid	2	S
Moxifloxacino	0,5	S
Rifabutina	0,5	S
Rifampicina	2	R

^aS: sensible, R: resistente.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 101 centros inscritos a este control, de los que respondieron 93, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación es del 92,1%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium abscessus* (93,1% de participación real).

MB124

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuesta óptima la identificación correcta de género y especie *Mycobacterium terrae*, actualmente *Mycolicibacter terrae* así como la identificación de complejo *M. terrae*; se consideró respuesta aceptable *Mycobacterium kumamotoense* (actualmente *Mycolicibacter kumamotoensis*). Como puede observarse en la tabla 2, hubo 47 centros (50,5%) que identificaron correctamente la especie de la cepa remitida, mientras que otros 26 centros (27,9%) respondieron complejo *M. terrae* y los 6 restantes (6,5%) *M. kumamotoense*, con lo que el porcentaje de respuestas consideradas correctas alcanzó el 85,0%.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium terrae</i> (<i>Mycolicibacter terrae</i>)	47	50,5
Complejo <i>Mycobacterium terrae</i>	26	27,9
Género <i>Mycobacterium</i>	6	6,5
<i>Mycobacterium kumamotoense</i> (<i>Mycolicibacter kumamotoensis</i>)	6	6,5
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i>)	4	4,3
Micobacteria atípica	3	3,2
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1	1,1
Total	93	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 (secuenciación, hibridación inversa o inmunocromatografía), por 73 de los centros (78,5%), en un 68,8% de las ocasiones como único método empleado. A continuación, le siguen la secuenciación (13 centros, el 14,0%), la hibridación inversa (12 centros, el 12,9%), la PCR a tiempo real (6 centros, el 6,5%), la PCR-RFLP (3 centros, el 3,2%), la inmunocromatografía (1 centro, el 1,1%) y el LiquidArray® (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	64	68,8
Espectrometría de masas + secuenciación	6	6,5
Hibridación inversa	5	5,4

MB124

Secuenciación	5	5,4
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	3	3,2
Espectrometría de masas + hibridación inversa	2	2,1
PCR a tiempo real	2	2,1
PCR-RFLP + secuenciación	2	2,1
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	1	1,1
Hibridación inversa + PCR a tiempo real + espectrometría masas	1	1,1
Hibridación inversa + PCR-RFLP	1	1,1
LiquidArray®	1	1,1
Total	93	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 (80,2%), seguido de las tiras de hibridación inversa GenoType Mycobacterium CM de Hain/Bruker (6,9%). El conjunto de las marcas informadas se detalla en la tabla 4. Como se observa en dicha tabla, los equipos de hibridación inversa disponibles comercialmente no son capaces de identificar *M. terrae*.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto ^b
MALDI-TOF (Bruker)	69	80,2	94,2
GenoType <i>Mycobacterium</i> CM (Hain, Bruker) ^a	6	6,9	16,7
GenoType MTBC (Hain, Bruker) ^a	2	2,3	0
GenoType <i>Mycobacterium</i> AS (Hain, Bruker) ^a	2	2,3	0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	2	2,3	0
Anyplex™ MTB/NTMe (Seegene) ^a	1	1,2	0
BD MGIT™ TBc ^a	1	1,2	0
GenoType NTM-DR (Hain, Bruker) ^a	1	1,2	0
FluoroType® (Hain, Bruker) ^a	1	1,2	0
Xpert® MTB/RIF (Cepheid) ^a	1	1,2	0
Total	86	100,0	76,8

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

^bSe han agrupado las identificaciones *M. terrae* y complejo *M. terrae*.

MB124

En la tabla 5 se señala la capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa remitida. Respecto al MALDI-TOF de Bruker, el 62,3% de los centros que lo habían utilizado identificaron la cepa como *M. terrae*, otro 31,9% respondió complejo *M. terrae*, y el 5,8% identificaron la cepa como *M. kumamotonense*. En cuanto al MALDI-TOF VITEK® MS, los 2 únicos centros que lo utilizaron respondieron *M. kumamotonense*. El resto de los sistemas comerciales no pudieron identificar esta especie.

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

Sistema	Número	<i>M.terrae</i>	Complejo <i>M. terrae</i>	<i>M. kumamotonense</i>	Otras identificaciones
MALDI-TOF (Bruker)	69	43 (62,3)	22 (31,9)	4 (5,8)	0
GenoTypeMycobacterium CM	6	0	1 (16,7)	0	5 (83,3)
GenoType MTBC	2	0	0	0	2 (100,0)
GenoType Mycobacterium AS	2	0	0	0	2 (100,0)
MALDI-TOF (VITEK® MS)	2	0	0	2 (100,0)	0

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 79 centros que realizaron una identificación de *M. terrae*, su complejo o de *M. kumamotonense*. De ellos, 42 no realizaron el estudio de sensibilidad, por lo que se analizaron un total de 37 antibiogramas.

Las tres técnicas empleadas fueron la microdilución (28 centros, el 75,7% de las respuestas con antibiograma), seguida de las tiras de gradientes de concentración (7 centros, el 18,9%) y de la dilución en medio líquido (4 centros, el 10,8%). Estos datos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	28	75,7
Tiras de gradientes de concentración	5	13,5
Dilución en medio líquido / concentración crítica	2	5,4
Dilución medio líquido + tira de gradientes de concentración	2	5,4
Total	37	100,0

MB124

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI destaca, en primer lugar, el panel de microdilución de Sensititre™, que fue usado por 26 centros (70,3% de los centros que realizaron antibiograma), seguido por las tiras de Etest® de bioMérieux (6 centros, el 16,2%). 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™ (ThermoScientific)	26	70,3
Etest® (bioMérieux)	6	16,2
BD BACTEC™ MGIT™	2	5,4
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	2,7
Fabricación propia	1	2,7
No informa ^a	1	2,7
Total	37	100,0

^aMétodos: microdilución (1).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

Respecto a los criterios de puntos de corte utilizados para la interpretación del antibiograma, de los 37 laboratorios que lo realizaron, 30 (81,1%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que 4 laboratorios (10,8%) manifestaron el haber seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y otros 3 participantes (8,1%) 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	30	81,1
EUCAST	4	10,8
Bibliografía	3	8,1
Total	37	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 19 antibióticos diferentes, de los cuales 11 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	28 (100,0)	0	0	0	0
Ciprofloxacino	27	27 (100,0)	0	0	0	0
Claritromicina	34	33 (97,1)	0	1 (2,9)	0	0
Cotrimoxazol	20	8 (40,0)	0	10 (50,0)	2 (10,0)	0
Doxiciclina	20	0	2 (10,0)	18 (90,0)	0	0
Etambutol	21	12 (57,2)	0	1 (4,7)	8 (38,1)	0
Isoniazida	13	0	0	11 (84,6)	2 (15,4)	0
Linezolid	31	30 (96,8)	0	0	1 (3,2)	0
Moxifloxacino	31	30 (96,8)	0	0	1 (3,2)	0
Rifabutina	20	19 (95,0)	0	1 (5,0)	0	0
Rifampicina	31	7 (22,6)	0	20 (64,5)	4 (12,9)	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 mayoría de los antimicrobianos ensayados, pero con respecto al cotrimoxazol y a la rifampicina se observa mayor diversidad de resultados entre los participantes. Con base en la CMI del valor asignado del cotrimoxazol, ésta fue de 2/38 µg/mL (sensible según CLSI), aunque con una dilución superior ya sería resistente. Respecto a la rifampicina, la cepa presentaba una CMI en el valor asignado de 2 µg/mL (según CLSI, es resistente a partir de 2 µg/mL).

MB124

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 93 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa con resultados analizables, 82 (88,2%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 4 (4,3%) indicaron que sí lo habían empleado y los 7 restantes (7,5%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Cinco centros indicaron que *M. terrae* podría ser el responsable del cuadro clínico del paciente, por lo que aconsejaban tratamiento antibiótico combinado con etambutol, rifampicina y un macrólido.

En cuanto a la identificación, 5 participantes comentaron que mediante los sistemas disponibles en sus laboratorios no pudieron lograr la identificación de la cepa, otros 4 laboratorios señalaron explícitamente que la identificación se había logrado gracias a la secuenciación y otros 4 participantes comentaron que habían obtenido un score similar con el MALDI-TOF para *M. terrae* y *M. kumamotoense*, por lo que algunos optaron por responder complejo *M. terrae*.

Respecto al antibiograma, 5 laboratorios comentaron que no existían puntos de corte específicos para *M. terrae*, otros 4 laboratorios señalaron explícitamente que el antibiograma que habían informado se había realizado en su centro de referencia, otros 2 laboratorios manifestaron que, de tratarse de una muestra clínica, habrían remitido la cepa a su centro de referencia para antibiograma. Por último, 2 centros señalaron que no obtuvieron crecimiento de la cepa en el antibiograma.

Madrid, 4 de junio de 2024




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.

MB124

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.