

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB325

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 una paciente de 29 años, procedente de Guinea Ecuatorial, que acudía al Servicio de Urgencias de su hospital de zona por un cuadro de malestar general, astenia, sensación febril no termometrada de predominio vespertino y pérdida de peso de hacía más de tres semanas de evolución. Describió el haber sufrido en los últimos 15 días accesos de tos escasamente productiva, siendo la expectoración en alguna ocasión ligeramente hemoptoica. En la exploración, se auscultaban crepitantes en ambos campos pulmonares, y en la radiografía de tórax se observaban pequeños infiltrados intersticiales bilaterales con una cavitación en el lóbulo superior derecho. Se recogió una muestra de esputo que fue remitida al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. Se decidió su ingreso en Neumología y se programó una fibrobroncoscopia. Desde el Servicio de Microbiología se informó que la baciloscopia del esputo era positiva, realizándose además un estudio mediante pruebas moleculares rápidas sobre muestra directa. A los 8 días de incubación, el cultivo del esputo en medio líquido de micobacterias fue positivo, creciendo la micobacteria que fue objeto del presente 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.

MB325

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 junto con hibridación inversa. La identificación de la especie *M. tuberculosis* fue confirmada por la 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*. Por otro lado, no se muestran resultados de Pirazinamida debido a la falta de suministro por desabastecimiento del proveedor.

Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización ^a
		CLSI (M24S-Ed2-2023)
Estreptomina	≤1	S
Etambutol	>5	R ^b
Isoniacida	≤0,1	S
Rifampicina	≤1	S

^aS: sensible, R: resistente.

^bNota: En el estudio de secuenciación la cepa remitida presentaba la mutación Met306Val en el gen *embB* con posición genómica 4247429, lo que determina resistencia de bajo nivel al etambutol.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 102 centros inscritos a este control, de los que respondieron 93, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación real fue del 91,2%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *Mycobacterium peregrinum* (95,1%). Así mismo, este porcentaje es también similar al del control MB224, en el que también se remitió una cepa de *M. tuberculosis* (96,1%).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuestas válidas las identificaciones de *M. tuberculosis* / *M. canettii*, el complejo *M. tuberculosis* y las especies *M. tuberculosis* y *M. canettii*, por la similitud existente entre las especies de micobacterias que componen el complejo *M. tuberculosis*.

MB325

Como puede observarse en la tabla 2, más de la mitad de los centros (65,6%) informaron sobre el complejo *M. tuberculosis*, mientras que un 25,8% especificó la especie *M. tuberculosis*, y un 8,6% contestó *M. tuberculosis* / *M. canettii*, por lo que el porcentaje de acierto total alcanzó el 100,0%.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	61	65,6
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	24	25,8
<i>M. tuberculosis</i> / <i>Mycobacterium canettii</i>	8	8,6
Total	93	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En este estudio, la técnica empleada mayoritariamente por los participantes fue la hibridación inversa, que fue usada, bien en solitario o bien combinada con otro método (PCR en tiempo real, espectrometría de masas o inmunocromatografía), por 35 de los centros (37,6%), en un 25,8% de las ocasiones empleada como único método. A continuación, le siguen en frecuencia de uso la PCR en tiempo real (26 centros -28,0%-), la inmunocromatografía (22 centros -23,7%-), la espectrometría de masas (21 centros -22,6%-), el LiquidArray® (3 centros -3,2%-), las pruebas bioquímicas (2 centros -2,2%-), la secuenciación (2 centros -2,2%-) y la PCR convencional (1 centro -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	%
Hibridación inversa	24	25,8
Espectrometría de masas	18	19,3
Inmunocromatografía	15	16,1
PCR en tiempo real	12	12,9
Hibridación inversa + PCR en tiempo real	8	8,6
PCR en tiempo real + inmunocromatografía	5	5,3
LiquidArray®	3	3,2
Espectrometría de masas + hibridación inversa	2	2,2
Secuenciación	2	2,2
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas + PCR en tiempo real	1	1,1

MB325

Hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,1
PCR	1	1,1
Pruebas bioquímicas + inmunocromatografía	1	1,1
Total	93	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 GenoType de Hain Lifescience (Bruker), empleadas en su conjunto (agrupando los *kits* MTBC, Mycobacterium CM y MTBDR*plus*) por 35 centros (38,9% respecto al conjunto de las técnicas comerciales). A continuación, le siguen el MALDI-TOF de Bruker (16,7%) y los cartuchos Xpert® de Cepheid (16,7%). 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.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
GenoType MTBC (Hain, Bruker)	23	25,6	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	15	16,7	100,0
Xpert® (Cepheid)	15	16,7	100,0
BD MGIT™ TBc	10	11,1	100,0
GenoType Mycobacterium CM (Hain, Bruker)	9	10,0	100,0
Bioline™ TB Ag MPT64 (Abbott)	6	6,7	100,0
FluoroType® (Hain, Bruker)	3	3,3	100,0
GenoType MTBDR <i>plus</i> (Hain, Bruker)	3	3,3	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	3	3,3	100,0
TBCheck MPT64 (Hain)	3	3,3	100,0
Total	90	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 todos los 93 centros que realizaron la identificación de *M. tuberculosis* o de su complejo. De ellos, 23 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, por lo que se analiza un total de 70 antibiogramas.

MB325

La técnica más utilizada fue la dilución en medio líquido, empleada por 67 centros (95,7%), seguida de las tiras de gradientes de concentración antibiótica (3 centros, el 4,3%) y de la microdilución (2 centros, el 2,9%). 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	92,8
Dilución medio líquido + tiras de gradientes de concentración	2	2,9
Microdilución	2	2,9
Tiras de gradientes de concentración	1	1,4
Total	70	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destaca el equipo automatizado BD BACTEC™ MGIT™ 960 de Becton Dickinson, que fue utilizado por 65 centros (92,8%). Hubo 2 centros (2,9%) que usaron las tiras de Etest® de bioMérieux y otros 2 participantes (2,9%) utilizaron el panel Sensititre™ de Thermo Fisher. El conjunto de las marcas informadas se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
BD BACTEC™ MGIT™	65	92,8
Etest® (bioMérieux)	2	2,9
Sensititre™	2	2,9
MIC Test Strip (Liofilchem®)	1	1,4
Total	70	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 71 laboratorios que lo realizaron, 52 (74,3%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que 13 (18,6%) manifestaron haber seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y otros 5 (7,1%) se basaron en los publicados en la bibliografía. Llama la atención que algunos centros respondan criterios de EUCAST para determinados microorganismos/antibióticos para los que no existen puntos de corte. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 7.

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

Criterio	Número	%
CLSI	52	74,3
EUCAST	13	18,6
Bibliografía	5	7,1
Total	70	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).

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 11 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	68	67 (98,5)	0	1 (1,5)	0	0
Etambutol	65	22 (33,8)	0	43 (66,2)	0	0
Isoniacida	70	70 (100,0)	0	0	0	0
Pirazinamida	29	26 (89,7)	0	1 (3,4)	2 (6,9)	0
Rifampicina	70	70 (100,0)	0	0	0	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

Como se puede observar, existe una excelente concordancia entre los laboratorios participantes y el valor asignado para la mayoría de los antibióticos ensayados, detectándose la mayor parte de las discrepancias en la interpretación del resultado del etambutol, a este respecto, se especifica que la cepa presentaba una mutación que confiere resistencia de bajo nivel al etambutol (ver nota pie de tabla 1).

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 93 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa con resultados analizables, 83 (89,2%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 5 (5,4%) indicaron que sí lo habían empleado, y los 5 restantes (5,4%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES


Catorce centros indicaron que no detectaron ninguna mutación de resistencia a la isoniacida, la rifampicina y a las quinolonas.

Otros 14 centros señalaron que no habían podido determinar la sensibilidad a la pirazinamida por un desabastecimiento de este antibiótico por parte de la casa comercial.

Ocho centros indicaron que la cepa era resistente al etambutol. De ellos, cuatro señalaron que la cepa presentaba la mutación M306V en el gen *embB*, que confería resistencia de bajo nivel al etambutol, mientras que un centro comentó que enviaría la cepa a su centro de referencia para la confirmación de esta resistencia, y otro centro consideró que podría tratarse de una falsa resistencia al etambutol.

Respecto al antibiograma, 6 laboratorios mencionaron que el antibiograma estaba en curso en el momento de enviar los resultados, un laboratorio señaló 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 la realización del antibiograma.

Madrid, 24 de noviembre de 2025




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

Concepción Gimeno Cardona

Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC

Todos los datos de este análisis han sido tratados confidencialmente y cumpliendo con los requisitos de la norma ISO 17043, independientemente de que se traten de áreas incluidas o no en el alcance de la acreditación por dicha norma.

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.

MB325

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 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.