

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-1/22

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 de una paciente de 23 años que era remitida a consulta de Dermatología por su MAP para valoración de una lesión ulcerada en la pantorrilla derecha. Como antecedentes de interés, no describía heridas quirúrgicas previas en la zona ni lesiones traumáticas evidentes, siendo el único antecedente a destacar que, en los 2 meses anteriores, tras una depilación con cera caliente, había sufrido una pequeña herida de evolución tórpida, que no había revertido a pesar de tratamiento tópico e incluso antibioterapia empírica con amoxicilina-clavulánico. A la exploración, se objetivaba alrededor de la herida una zona eritematosa, de color rojo violáceo y aspecto necrótico con zona central purulenta y drenaje de material serosanguinolento. También se objetivaron pequeñas lesiones nodulares satélites no exudativas y ligeramente dolorosas a la palpación en la cara anterior de la pierna, así como adenopatías inguinales ipsilaterales. La paciente no refería síntomas sistémicos y las pruebas analíticas básicas aportadas por ella, eran normales. Se realizó biopsia de la lesión y aspirado del contenido de uno de los nódulos y se remitió al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. A los cinco días de incubación, creció en medio líquido y en medio de Löwenstein-Jensen, 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-1/22

VALOR ASIGNADO

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

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos por un sistema de microdilución comercial y se muestran en la tabla 1. Para la interpretación de los resultados se usaron los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) correspondientes a las micobacterias de crecimiento rápido.

Tabla 1. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización
		CLSI (M62-1st ed-2018)
Amikacina	≤1	S
Cefoxitina	8	S
Ciprofloxacino	≤0,125	S
Claritromicina	0,5	S
Doxiciclina	>16	R
Imipenema	≤2	S
Linezolid	4	S
Minociclina	>8	R
Moxifloxacino	≤0,25	S
Tigeciclina	0,5	NI
Tobramicina	16	R

^a S: sensible, R: resistente, NI: no interpretada.

PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 99 centros inscritos a este control, de los que respondieron 94, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación fue del 95,0%. Este porcentaje es superior tanto al del último control de micobacteriología (*Mycobacterium tuberculosis* -87,9%-), como también al del control MB-3/16 (*M. fortuitum* -83,0%-).

MB-1/22

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuestas válidas: complejo *M. fortuitum*, complejo *M. fortuitum* / *Mycobacterium peregrinum*, *Mycobacterium septicum*, *M. fortuitum* y *M. peregrinum*, por ser todas ellas especies incluidas dentro del complejo *M. fortuitum* y por la cercanía genética existente entre ellas.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium septicum</i>	55	58,5
Complejo <i>Mycobacterium fortuitum</i>	25	26,6
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	6	6,4
Complejo <i>Mycobacterium fortuitum</i> / <i>M. peregrinum</i>	4	4,2
<i>Mycobacterium peregrinum</i>	2	2,1
Género <i>Mycobacterium</i>	1	1,1
<i>Mycobacterium</i> (no <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	1	1,1
Total	94	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 94 centros que enviaron la hoja de respuesta, hubo 2 de ellos (2,1%) que 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 inmunocromatografía) por 62 de los centros (66,0%). A continuación, le siguen la hibridación inversa (32 centros, el 34,0%), la secuenciación (6 centros, el 6,4%), la PCR a tiempo real (5 centros, el 5,3%), las pruebas bioquímicas (3 centros, el 3,2%), las características morfológicas y culturales (1 centro, el 1,1%) 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	50	53,2
Hibridación inversa	20	21,2
Espectrometría de masas + hibridación inversa	5	5,3
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	5	5,3

MB-1/22

Espectrometría de masas + secuenciación	4	4,2
Secuenciación	2	2,1
Características morfológicas y culturales	1	1,1
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	1	1,1
Espectrometría de masas + hibridación inversa + pruebas bioquímicas	1	1,1
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	1	1,1
Oligocromatografía	1	1,1
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	1	1,1
No informa	2	2,1
Total	94	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (57,3% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales empleadas), seguido de las tiras de hibridación inversa GenoType Mycobacterium CM (28,1%) de Hain. El conjunto de todas las marcas comerciales empleadas se muestra en la tabla 4. Hay que señalar que las tiras GenoType Mycobacterium AS no detectan el complejo *M. fortuitum*.

Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	51	57,3	100,0
GenoType Mycobacterium CM (Hain, Bruker)	25	28,1	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	8	9,0	100,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain, Bruker) ^a	2	2,2	100,0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	2	2,2	100,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell) ^a	1	1,2	0
Total	89	100,0	98,9

^a Este equipo no permite la detección del complejo *M. fortuitum*.

En la tabla 5, se señala la capacidad de los sistemas comerciales mayoritarios para identificar la cepa remitida. Todos los sistemas comerciales capaces de detectar el complejo *M. fortuitum* obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de dicho complejo.

MB-1/22

Tabla 5. Resultados de identificación del complejo *M. fortuitum* con los sistemas comerciales más empleados.

Sistema	Nº	<i>M. septicum</i>	Complejo <i>M. fortuitum</i>	<i>M. fortuitum</i>	Complejo <i>M. fortuitum</i> / <i>M. peregrinum</i>	<i>M. peregrinum</i>
MALDI-TOF (Bruker)	51	50 (98,0)	1 (2,0)	0	0	0
GenoType Mycobacterium CM	25	2(8,0)	15 (60,0)	3 (12,0)	3 (12,0)	2 (8,0)
MALDI-TOF (VITEK® MS)	8	1 (12,5)	5 (62,5)	2 (25,0)	0	0
GenoType Mycobacterium AS	2	0	2 (100,0)	0	0	0
INNO-LiPA® (Fujirebio)	2	0	1 (50,0)	0	1 (50,0)	0

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

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 92 centros que obtuvieron la identificación del complejo *M. fortuitum* o de alguna de sus especies que lo componen. De ellos 37 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, mientras que hubo otro centro que no introdujo ningún antibiótico en la nueva aplicación, con lo que se analizaron así un total de 54 antibiogramas.

La técnica más utilizada fue la microdilución, empleada por 36 centros (66,7% de las respuestas con antibiograma), seguida de las tiras de gradiente de concentración (18 centros, el 33,3%). La totalidad de los métodos empleados se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Microdilución	35	64,8
Tiras de gradiente de concentración	17	31,4
Tiras de gradiente de concentración + microdilución	1	1,9
No informa	1	1,9
Total	54	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destacan el panel de microdilución de Sensititre™, usado por 33 centros (el 61,1% que realizaron antibiograma), seguido de las tiras de Etest® de bioMérieux (14 centros, el 25,9%). Hubo 2 participantes (3,7%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, de los cuales uno remitió el antibiograma a un centro externo. El conjunto de las marcas empleadas para el estudio de sensibilidad se muestra en la tabla 7.

MB-1/22

Tabla 7. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	33	61,1
Etest® (bioMérieux)	14	25,9
Liofilchem® MIC Test Strip	4	7,4
Fabricación propia	1	1,9
No informa ^a	2	3,7
Total	54	100,0

^aMétodos: microdilución (1), no informa (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 54 laboratorios que lo realizaron hubo 46 (85,2%) que emplearon los criterios del CLSI y los 8 restantes (14,8%) informaron según los criterios de EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 8.

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

Criterio	Número	%
CLSI	46	85,2
EUCAST	8	14,8
Total	54	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 29 antibióticos diferentes, pero tan solo 12 fueron informados por 10 o más participantes.

Tabla 9. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

MB-1/22

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible	Intermedio ^b	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	52	52 (100,0)	0	0	0	0
Cefoxitina	34	23 (67,6)	9 (26,5)	2 (5,9)	0	0
Ciprofloxacino	47	47 (100,0)	0	0	0	0
Claritromicina	52	17 (32,7)	7 (13,4)	28 (53,9)	0	0
Cotrimoxazol	45	32 (71,1)	1 (2,2)	11 (24,5)	1 (2,2)	0
Doxiciclina	40	0	2 (5,0)	38 (95,0)	0	0
Imipenema	46	32 (69,5)	9 (19,6)	4 (8,7)	0	1 (2,2)
Linezolid	48	40 (83,4)	4 (8,3)	3 (6,2)	1 (2,1)	0
Minociclina	16	0	3 (18,8)	13 (81,2)	0	0
Moxifloxacino	41	41 (100,0)	0	0	0	0
Tigeciclina	15	7 (46,6)	0	0	8 (53,4)	0
Tobramicina	24	0	1 (4,2)	22 (91,6)	1 (4,2)	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico. Intermedio^b: aglutina las respuestas informadas como intermedio / sensibilidad con exposición incrementada y sensible dosis dependiente, a pesar de que no existen criterios actuales estandarizados que permitan la interpretación de sensible dosis dependiente y sensible con exposición incrementada, pero se ha tenido que agrupar en la tabla porque 8 centros así lo han expresado en sus hojas de respuesta.

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, con la única excepción de la cefoxitina y de la claritromicina, en las que se observó una moderada discrepancia entre los centros. En el caso de la cefoxitina, en base al valor asignado, la cepa presentaba una CMI de 8 µg/mL (sensible), pero diferencias en dos diluciones cambian la interpretación a intermedia (CMI 32-64 µg/mL). Respecto a la claritromicina, la cepa presentaba una CMI ≤2 µg/mL, con una dilución más (CMI de 4 µg/mL) presentaría sensibilidad intermedia a la claritromicina y con dos diluciones (CMI de 8 µg/mL) ya sería resistente a la misma.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

MB-1/22

De los 94 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 79 (84,0%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 11 (11,7%) indicaron que sí lo habían empleado y los otros 4 (4,3%) lo usaron parcialmente.

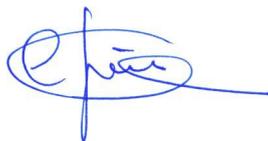
COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Hubo diez centros que especificaron que *M. septicum* forma parte del complejo *M. fortuitum*. Así mismo, otros dos centros comentaron que identificaron la cepa como *Mycobacterium boenickei*, que también forma parte del complejo *M. fortuitum*.

Tres centros recomendaron un tratamiento con dos antibióticos durante 4-6 meses. Por último, dos centros indicaron que no detectaron ninguna mutación de resistencia para macrólidos (*rrl*) ni para aminoglucósidos (*rrs*).

Por último, un laboratorio mencionó que el antibiograma informado se había enviado a un centro externo.

Madrid, 1 de junio de 2022



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-1/22