

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-2/22

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 a partir de una paciente de 67 años que había sido remitida a Neumología por su médico de familia por presentar, desde hacía dos meses, un cuadro de astenia, anorexia, pérdida de peso, febrícula de predominio vespertino, tos escasamente productiva y aparición en el mes previo de una disnea a pequeños esfuerzos. La clínica no había mejorado a pesar de diferentes tratamientos antibióticos. Como datos de interés, la paciente había iniciado desde hacía año y medio, un tratamiento con fármacos biológicos para una artropatía psoriásica que había sido diagnosticada recientemente. En el momento de la exploración presentaba febrícula de 37,3 °C y ligeros crepitantes en campo pulmonar derecho a la auscultación. La radiografía de tórax mostraba una pequeña cavitación en lóbulo superior derecho. Se recogieron tres muestras de esputo que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico y de micobacterias. La baciloscopia fue negativa, aislándose a los 17 días en medio de cultivo líquido y en dos de las tres 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.

MB-2/22

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue el de *Mycobacterium tuberculosis*. Esta identificación de referencia se obtuvo mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) e hibridación inversa y 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. Valor asignado del estudio de sensibilidad.

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 99 centros inscritos a este control, de los que respondieron 95, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación es del 96,0%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa del de complejo *Mycobacterium fortuitum* (95,0% de participación), pero superior al del control MB-4/21, en el que también se remitió una cepa de *M. tuberculosis* (87,9% de participación real).

IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuesta válida la identificación de género y especie (*M. tuberculosis*), así como las respuestas complejo *M. tuberculosis* y *M. tuberculosis* / *Mycobacterium canetti*, por la cercanía existente entre dichas especies.

MB-2/22

Como puede observarse en la tabla 2, más de la mitad de los centros (63, el 66,3%) informaron el complejo *M. tuberculosis*, mientras que un 29,5% informó correctamente la especie *M. tuberculosis* y un 3,2% respondieron *M. tuberculosis* / *M. canetti*; por lo que el porcentaje de acierto total alcanzó al 99,0% de los participantes.

Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.

Identificación	Número	%
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	63	66,3
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	28	29,5
<i>M. tuberculosis</i> / <i>Mycobacterium canetti</i>	3	3,2
<i>Mycobacterium bovis</i>	1	1,0
Total	95	100,0

MÉTODOS Y MARCAS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN

La técnica empleada mayoritariamente por los 95 participantes fue la hibridación inversa, usada, bien en solitario o bien combinada con otro método (inmuncromatografía, espectrometría de masas, PCR a tiempo real, pruebas bioquímicas, sondas moleculares o *spoligo*typing) por 34 de los centros (el 35,8%). A continuación, le siguen la inmuncromatografía (31 participantes, el 32,6%), la espectrometría de masas (25 participantes, el 26,3%), y la PCR a tiempo real (18 participantes, el 18,9%). La totalidad de los métodos empleados se detalla en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Inmuncromatografía	18	18,9
Espectrometría de masas	16	16,8
PCR a tiempo real	15	15,8
Hibridación inversa	14	14,7
Hibridación inversa + inmuncromatografía	7	7,3
Espectrometría de masas + hibridación inversa	5	5,2
Espectrometría de masas + inmuncromatografía	4	4,2
LiquidArray®	4	4,2
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	2	2,1

MB-2/22

Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	2	2,1
Sonda + hibridación inversa	2	2,1
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,1
Hibridación inversa + inmunocromatografía + <i>spoligotyping</i>	1	1,1
Oligocromatografía	1	1,1
PCR	1	1,1
PCR a tiempo real + inmunocromatografía + secuenciación	1	1,1
No informa	1	1,1
Total	95	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, MTBDRs/, Mycobacterium AS y MTBDR*plus*) por 30 centros (el 32,6% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales). A continuación, le siguen el MALDI-TOF de Bruker (15,2%) y las tiras de inmunocromatografía BD MGIT™ TBc (12,0%). Todos estos sistemas comerciales obtuvieron un excelente índice de aciertos para la identificación de la especie o del complejo *M. tuberculosis*. El único resultado discrepante se produjo con la identificación *Mycobacterium bovis* obtenida con el MALDI-TOF de Bruker. 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)	24	26,1	100,0
MALDI-TOF (Bruker)	14	15,2	92,9
BD MGIT™ TBc (Becton Dickinson)	11	12,0	100,0
Xpert® (Cepheid)	9	9,7	100,0
MALDI-TOF (VITEK® MS)	7	7,6	100,0
SD BIOLINE TB Ag MPT64 (Abbott)	7	7,6	100,0
FluoroType® MTBDR (Hain, Bruker)	4	4,3	100,0
GenoType Mycobacterium CM (Hain, Bruker)	3	3,2	100,0
BD MAX™ (Becton Dickinson)	2	2,2	100,0
Capilia™ TB-Neo	2	2,2	100,0
TBCheck MPT64 (Hain, Bruker)	2	2,2	100,0

MB-2/22

Allplex™ MTB/MDR/XDR _e (Seegene)	1	1,1	100,0
Anyplex™ MTB/NTM (Seegene)	1	1,1	100,0
Anyplex™ II MTB/MDR (Seegene)	1	1,1	100,0
GenoType MTBDR _s / (Hain, Bruker)	1	1,1	100,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain, Bruker) ^a	1	1,1	100,0
GenoType MTBDR _{plus} (Hain, Bruker)	1	1,1	100,0
Speed-oligo® Mycobacteria (Vircell)	1	1,1	100,0
Total	92	100,0	98,9

^aEste equipo no permite la detección del complejo *M. tuberculosis*.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 95 centros que realizaron la identificación de *M. tuberculosis* o de su complejo, incluyendo la respuesta *M. bovis*. De ellos, 12 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad y otros 11 participantes no introdujeron ningún antibiótico en la aplicación, con lo que se analizaron así un total de 72 antibiogramas.

La técnica más utilizada fue la dilución en medio líquido, empleada por 68 centros (el 94,4% de las respuestas con antibiograma), seguida de la microdilución (5 centros, el 6,9%) y las tiras de gradiente de concentración (3 centros, el 4,1%). La totalidad de los métodos informados se detalla en la tabla 5.

Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.

Método	Número	%
Dilución en medio líquido / concentración crítica / proporciones	63	87,5
Dilución en medio líquido + microdilución	3	4,1
Dilución medio líquido + tira de gradientes de concentración	2	2,8
Microdilución	2	2,8
Tira de gradientes de concentración	1	1,4
No informa	1	1,4
Total	72	100,0

MB-2/22

Respecto a los sistemas comerciales empleados, destaca el equipo automatizado BACTEC™ MGIT™ 960 de Becton Dickinson, que fue usado por el 94,4% de los participantes que realizaron antibiograma. El conjunto de las marcas empleadas en el estudio de sensibilidad se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.

Marca	Número	%
BACTEC™ MGIT™ (Becton Dickinson)	68	94,4
Sensititre™ (Thermo Scientific)	2	2,8
Etest® (bioMérieux)	1	1,4
No informa ^a	1	1,4
Total	72	100,0

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LOS PARTICIPANTES

En cuanto a los criterios utilizados para la interpretación de los puntos de corte del antibiograma, de los 72 laboratorios que lo realizaron, hubo 56 (77,8%) que emplearon los criterios del CLSI, otros 14 (19,5%) informaron que habían empleado criterios EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y los 2 restantes (2,7%) los publicados en la bibliografía. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 7.

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

Criterio	Número	%
CLSI	56	77,8
EUCAST	14	19,5
Bibliografía	2	2,7
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 análisis de resultados sólo a modo informativo, sin efectos de comparación.

MB-2/22

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 15 antibióticos diferentes, pero tan solo 5 fueron informados por 10 o más participantes.

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, con discrepancias ocasionales sobre todo en lo que respecta a la pirazinamida y a la estreptomina.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos

Antibiótico	Nº	Categorización ^a				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Estreptomina	70	64 (91,4)	0	5 (7,2)	1 (1,4)	0
Etambutol	71	70 (98,6)	0	1 (1,4)	0	0
Isoniacida	72	70 (97,2)	0	2 (2,8)	0	0
Pirazinamida	60	54 (90,0)	0	5 (8,3)	1 (1,7)	0
Rifampicina	72	72 (100,0)	0	0	0	0

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

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

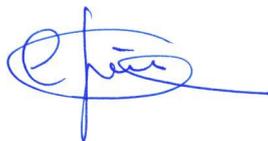
De los 95 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 85 (89,5%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 3 (3,2%) indicaron que sí lo habían empleado y otros 7 (7,3%) lo usaron parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Doce centros indicaron que no detectaron ninguna mutación de resistencia a la isoniacida y rifampicina. Dos laboratorios mencionaron que el antibiograma informado se había enviado a un centro externo.

MB-2/22

Madrid, 18 de agosto de 2022



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-2/22