

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOBACTERIOLOGÍA CONTROL MB-1/23

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 47 años que acudía a urgencias por malestar general, fiebre de 38,7°C, escalofríos, vómitos y náuseas. Como antecedentes de interés, dos meses antes había sido diagnosticada de un linfoma difuso de células B grandes con características plasmocitoides, por lo que había recibido dos ciclos de quimioterapia antineoplásica con ciclofosfamida, clorhidrato de doxorrubicina, vincristina y prednisolona (R-CHOP), administrándose el segundo ciclo 2 días antes del inicio de la fiebre. A la exploración, la paciente presentaba REG, con palidez cutáneo-mucosa y ligera taquipnea. En el hemograma destacaba leucocitos totales de 5.150/mm<sup>3</sup>, con 50,5% de neutrófilos y 16,8% de linfocitos, y hemoglobina disminuida de 8,6 g/dL. Se decidió su ingreso, y se extrajeron hemocultivos, retirándose el catéter central insertado periféricamente, remitiéndose las muestras para su cultivo al Servicio de Microbiología. En los hemocultivos, crecieron a las 48h de incubación numerosos bacilos gran variables que tras su resiembra en medio de Lowenstein-Jensen crecieron a los 4 días como colonias pequeñas, suaves y no pigmentadas que luego evolucionaron a colonias amarillentas brillantes, cuya tinción de Ziehl-Neelsen confirmó que se trataba de microorganismos parcialmente ácido-alcohol resistentes que constituyeron el 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-1/23

## VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia empleado para el estudio comparativo fue el de *Mycolicibacterium canariasense* (previamente denominado *Mycobacterium canariasense*). Esta identificación de referencia se obtuvo mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) refrendada por secuenciación del gen *hsp65*.

Los resultados de sensibilidad antibiótica del consenso de expertos (valor asignado) fueron obtenidos mediante un panel comercial de microdilución 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 a las micobacterias de rápido crecimiento.

**Tabla 1. Estudio de sensibilidad de consenso de expertos**

Antibiótico	CMI (µg/mL)	Categorización <sup>a</sup>
		CLSI (M62-1st ed-2018)
Amikacina	≤1	S
Ciprofloxacino	0,25	S
Claritromicina	0,12	S
Cotrimoxazol	0,5	S
Doxiciclina	0,25	S
Linezolid	2	S
Moxifloxacino	≤0,25	S
Tigeciclina	0,25	NI
Tobramicina	≤1	S

<sup>a</sup>S: sensible, NI: no interpretada.

## PARTICIPACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 101 centros inscritos a este control, de los que respondieron 94, todos ellos con resultados valorables, por lo que el porcentaje de participación es del 93,1%. Este porcentaje es similar al del último control de Micobacteriología, en el que se envió una cepa de *M. gordonae* (88,9% de participación).

## IDENTIFICACIÓN

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como respuesta válida la identificación correcta de género y especie *M. canariasense*. Como puede observarse en la tabla 2, la mayoría de los centros (73, el 77,7%)

MB-1/23

identificaron correctamente la especie de la cepa remitida. Hay que tener en cuenta que la especie *Mycobacterium cosmeticum* (*Mycobacterium cosmeticum*), especie estrechamente relacionada con la anterior, no estaba creada en la aplicación del Programa de Control de Calidad en el momento de la introducción de las respuestas.

**Tabla 2. Resultados de la identificación micobacteriana.**

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium canariasense</i>	73	77,7
Género <i>Mycobacterium</i>	7	7,5
Micobacteria atípica	3	3,2
Micobacteria de crecimiento rápido	3	3,2
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i> )	3	3,2
Micobacteria escotocromógena de crecimiento rápido	2	2,1
Micobacteria no cromógena de crecimiento rápido	2	2,1
<i>Mycobacterium gordonae</i>	1	1,0
Total	94	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, inmunocromatografía o pruebas bioquímicas) por 76 de los centros (80,9%), de los cuales un 68,1% la usó como único método diagnóstico. A continuación, le siguen en frecuencia la secuenciación (15 centros, el 16,0%) y la hibridación inversa (9 centros, el 9,6%). 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	68,1
Espectrometría de masas + secuenciación	7	7,5
Hibridación inversa	4	4,4
Secuenciación	4	4,4
Espectrometría de masas + hibridación inversa	2	2,2
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	2	2,2

MB-1/23

Secuenciación + características morfo-culturales	2	2,2
Características morfo-culturales	1	1,0
Espectrometría de masas + hibridación inversa + secuenciación	1	1,0
Espectrometría de masas + inmunocromatografía	1	1,0
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	1	1,0
Hibridación inversa + inmunocromatografía	1	1,0
Inmunocromatografía	1	1,0
Pruebas bioquímicas	1	1,0
Pruebas bioquímicas + secuenciación	1	1,0
No informa	1	1,0
Total	94	100,0

<sup>a</sup>PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, hubo un predominio del MALDI-TOF de Bruker (77,4% respecto al conjunto de las técnicas de identificación comerciales que se emplearon), seguido del MALDI-TOF VITEK® MS de bioMérieux (11,9%). La totalidad de las marcas comerciales se muestra en la tabla 4. Hay que señalar que ni las tiras de hibridación inversa GenoType Mycobacterium AS y GenoType Mycobacterium CM, ni las tiras de inmunocromatografía BD MGIT™ TBc y SD BIOLINE TB Ag MPT64 son capaces de detectar *M. canariensis*.

**Tabla 4. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Método comercial	Número	% uso	% acierto
MALDI-TOF (Bruker)	65	77,4	96,9
MALDI-TOF (VITEK® MS)	10	11,9	10,0
GenoType Mycobacterium AS (Hain, Bruker) <sup>a</sup>	4	4,8	25,0
GenoType Mycobacterium CM (Hain, Bruker) <sup>a</sup>	3	3,5	0,0
BD MGIT™ TBc <sup>a</sup>	1	1,2	0,0
SD BIOLINE TB Ag MPT64 (Abbott) <sup>a</sup>	1	1,2	0,0
Total	84	100,0	77,4

<sup>a</sup>Estos kits no permiten la detección de *M. canariensis*.

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 73 centros que obtuvieron la identificación de *M. canariasense*. De ellos, 30 no realizaron el estudio fenotípico de sensibilidad, con lo que se analizaron un total de 43 antibiogramas.

La técnica más utilizada fue la microdilución, informada por 29 centros (67,4% de las respuestas con antibiograma), seguida de las tiras de gradiente de concentración (16 centros, el 37,2%). La totalidad de los métodos empleados se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
Microdilución	27	62,8
Tiras de gradientes de concentración	13	30,2
Tiras de gradiente de concentración + microdilución	2	4,7
Disco-placa + tiras de gradiente de concentración	1	2,3
Total	43	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para la obtención de la CMI, destacan el panel Sensititre™, usado por 28 centros (el 65,1% que realizaron antibiograma), seguido de las tiras de Etest® de bioMérieux (12 centros, el 27,9%). El conjunto de las marcas empleadas para el estudio de sensibilidad se detalla en la tabla 6.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el antibiograma.**

Marca	Número	8%
Sensititre™ (Thermo Scientific)	28	65,1
Etest® (bioMérieux)	12	27,9
MIC Test Strip (Liofilchem®)	3	7,0
Total	43	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 43 laboratorios que lo realizaron, 35 (81,4%) emplearon los criterios del CLSI, mientras que 3 laboratorios (7,0%) manifestaron el haber seguido los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y otros 4 (9,3%) se basaron en lo publicado en la bibliografía. Por último, hubo un participante (2,3%) que envió la cepa a un

MB-1/23

centro externo para el antibiograma y no informa de esta premisa. Llama la atención que algunos participantes respondan criterios EUCAST para determinados microorganismos para los que no existen puntos de corte.

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

Criterio	Número	%
CLSI	35	81,4
EUCAST	3	7,0
Bibliografía	4	9,3
No informan	1	2,3
Total	43	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 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 28 antibióticos diferentes, de los cuales 13 fueron informados por 10 o más participantes.

**Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos**

Antibiótico	Nº	Categorización <sup>a</sup>				
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Evidencia insuficiente
Amikacina	41	40 (97,6)	0	0	0	1 (2,4)
Cefoxitina	27	24 (88,9)	0	2 (7,4)	0	1 (3,7)
Ciprofloxacino	32	32 (100,0)	0	0	0	0
Claritromicina	40	39 (97,5)	0	0	0	1 (2,5)
Cotrimoxazol	29	23 (79,3)	0	6 (20,7)	0	0
Doxiciclina	35	35 (100,0)	0	0	0	0
Imipenema	37	33 (89,2)	1 (2,7)	2 (5,4)	0	1 (2,7)

MB-1/23

Levofloxacin	10	9 (90,0)	0	0	0	1 (10,0)
Linezolid	40	36 (90,0)	3 (7,5)	0	0	1 (2,5)
Minociclina	12	11 (91,7)	0	0	0	1 (8,3)
Moxifloxacin	33	33 (100,0)	0	0	0	0
Tigeciclina	13	6 (46,2)	0	0	7 (53,8)	0
Tobramicina	26	25 (96,2)	0	0	0	1 (3,8)

<sup>a</sup>Los 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, con la única excepción del cotrimoxazol y de la tigeciclina, en las que se observó una moderada discrepancia entre los centros. Respecto a la tigeciclina, en base a los criterios del CLSI de 2018, existen datos insuficientes para establecer una correlación entre los resultados de la sensibilidad obtenidos *in vitro* con la respuesta clínica, por lo que solamente se debería informar la CMI.

En cuanto al cotrimoxazol, una posible razón sería el momento en el que se realiza la lectura del antibiograma, si es a los 3 días o a los 5 días.

## UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO.

De los 94 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 83 (88,3%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 6 (6,4%) indicaron que sí lo habían empleado y los 5 restantes (5,3%) lo usaron parcialmente.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

El principal comentario (por 13 centros) era que el MALDI-TOF no era capaz de diferenciar *M. canariensis* de *M. cosmeticum*, ya que los espectros obtenidos eran muy similares. Otros 8 centros señalaron que hubieran respondido *M. cosmeticum*, especie no creada entonces en la aplicación. Hubo 7 centros que manifestaron que con las tiras de hibridación inversa GenoType no habían logrado la identificación de especie.

Así mismo, 4 laboratorios comentaron que la especie *M. canariensis* está relacionada con bacteriemia asociada al catéter, y que se le debía retirar el catéter a la paciente del caso clínico.

Madrid, 22 de mayo de 2023



Concepción Gimeno Cardona

**Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC**



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

**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-1/23