

CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-2/01)

En el presente control se envió a los distintos centros participantes una cepa de *Mycobacterium chelonae* en medio de Löwestein-Jensen que había sido aislada de un varón de 66 años sometido a diálisis peritoneal continua ambulatoria desde hacía un año. Dicho paciente, presentó un cuadro de peritonitis con dolor abdominal, fiebre de 38°C y enrojecimiento del orificio de salida del catéter. Se tomaron muestras del orificio de salida, así como del líquido del lavado peritoneal, y se remitieron al laboratorio de Microbiología donde se realizó el examen directo, y el cultivo aerobio y anaerobio. El cultivo bacteriológico habitual fue negativo, pero en el tubo de Löwestein-Jensen se observó el crecimiento, a los 5 días de incubación, de unas colonias de bacilos ácido-alcohol resistentes en la tinción de Ziehl-Neelsen. Se solicitó a los participantes que llevaran a cabo la identificación de esta cepa y si fuera procedente, realizaran pruebas de sensibilidad, así como formularan comentarios, sugerencias o realizaran una valoración clínica sobre el caso.

La cepa fue identificada por el laboratorio que actuó como centro de referencia mediante las características y pruebas bioquímicas señaladas en la Tabla 1.

Tabla 1. Identificación de la cepa de *M. chelonae* según el laboratorio que actuó de referencia^a.

Característica / Prueba bioquímica	Resultado
Crecimiento a 37°C	+
Crecimiento a 45°C	-
Crecimiento rápido (< 7 días)	+
Colonias lisas (S) o rugosas (R)	S/R
Cromogenicidad	-
Arilsulfatasa (3 días)	+
Reducción de nitratos	-
Pirazinamidasa	+
Ureasa	+
Crecimiento en McConkey sin cristal violeta	+
Catalasa a 68°C	+/-
Niacina	-/+
Tween® 80	-/+
Reducción del telurito	+
Tolerancia NaCl 5% (28°C)	-
Utilización de citrato sódico	+
Utilización del manitol	-
Utilización del inositol	-

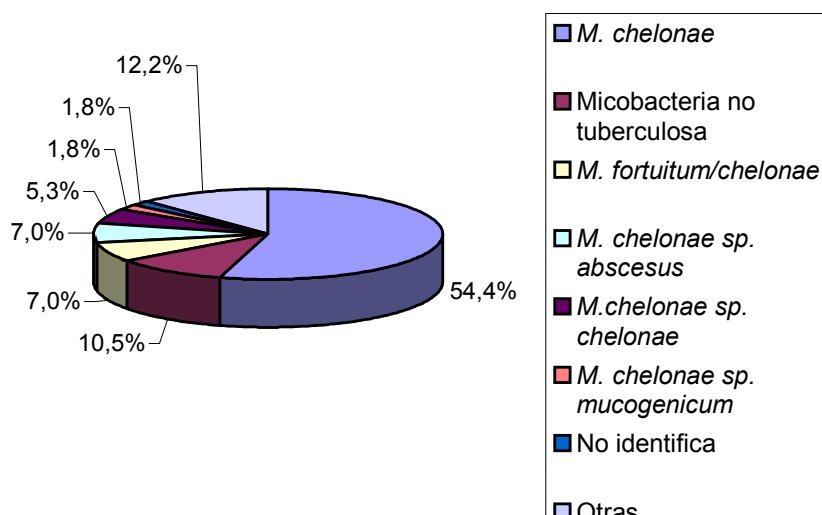
^aEn negrita, las pruebas clave.

Se recibieron 59 cuestionarios de los 79 enviados, lo que supone un 74,7%. Dos de los participantes no llegan a aportar datos concluyentes sobre la identificación, aludiendo falta de tiempo para la realización de las pruebas, por lo que el porcentaje de participación real fue del 72,2%. De los 57 laboratorios que identifican la cepa, 56 (98,2%) la encuadran correctamente dentro del grupo de las micobacterias y tan sólo uno (1,8%) la identifica como perteneciente al género *Nocardia*. Como se puede observar en la tabla 2, son 31 (54,4%) los centros que emiten como respuesta *M. chelonae*, lo que se corresponde con la identificación del laboratorio de referencia. Además, otros 8 centros llegan a aportar la subespecie a la que pertenece la cepa: así cuatro (7,0%) la identifican como *M. chelonae* ssp. *abscesus*, tres (5,3%) como *M. chelonae* ssp. *chelonae*, y uno (1,8%) como *M. chelonae* ssp. *mucoogenicum*.

Otro de los datos significativos es que 4 centros (7,0%), encuadran la micobacteria dentro del complejo *M. fortuitum / chelonae* aunque sin llegar al nivel de especie, 2 (3,5%) la identifican como una micobacteria de crecimiento rápido (uno de ellos aporta el dato de no cromógena) y que 6 (10,5%) participantes la informan como micobacteria no tuberculosa.

Tabla 2. Resultados de la identificación de la cepa.

Identificación	Nº	%
<i>Mycobacterium chelonae</i>	31	54,4
Micobacteria no tuberculosa	6	10,5
Complejo <i>M. fortuitum / chelonae</i>	4	7,0
<i>Mycobacterium chelonae</i> ssp. <i>abscesus</i>	4	7,0
<i>Mycobacterium chelonae</i> ssp. <i>chelonae</i>	3	5,3
<i>Mycobacterium marinum</i>	2	3,5
Micobacteria de crecimiento rápido	2	3,5
<i>Mycobacterium chelonae</i> ssp. <i>mucoogenicum</i>	1	1,8
<i>Mycobacterium septicum</i>	1	1,8
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1	1,8
Género <i>Nocardia</i>	1	1,8
No identifica	1	1,8
Total	57	100,0



La mayoría de los participantes de este control que informaron resultados distintos de *M. chelonae*, llevaron a cabo la identificación basándose en pruebas bioquímicas, características morfológicas o de cultivo, o bien utilizaron sondas específicas que les permitieron descartar otras especies y aproximarse al nivel de género.

De los 57 centros que llevaron a cabo la identificación, 53 de ellos (93,0%) indican el método utilizado. La realización de las pruebas bioquímicas clásicas fue empleada por 35 laboratorios, en 29 de ellos de forma aislada y en 6 junto con otros métodos de identificación (cromatografía, sonda, hibridación inversa, PRA). En segundo lugar, aunque con bastante diferencia, se encuentran el estudio de las características morfológicas y culturales y las sondas de ácidos nucleicos comerciales, empleadas cada una de ellas en cinco centros. De los que usaron dichas sondas, tan sólo dos informaron la marca: Accuprobe®/Gen-Probe. Por otro lado, son cuatro los laboratorios que informan la hibridación inversa como método de identificación y en todos los casos se refieren al equipo comercial InnoLipa® (Innogenetics). Los métodos restantes, como PCR-RFLP y la cromatografía de gases, se utilizaron en un número menor de ocasiones. Aunque en la tabla 3 se refleja que la cromatografía es utilizada por 2 laboratorios, en realidad hay un tercer centro que también la usa junto con la hibridación inversa, y al igual que en el caso anterior se ha elegido la última para la elaboración de las estadísticas. Finalmente, destacamos que ninguno de los laboratorios que emplean los métodos de cromatografía, PCR o genotipado informan sobre ningún equipo comercial.

Tabla 3. Métodos utilizados para la identificación.

Identificación	Número	%
Pruebas bioquímicas	35 ^a	61,4
Características morfológicas y de cultivo	5	8,8
Sonda	5	8,8
Hibridación inversa	4 ^b	7,0
No informa	4	7,0
Cromatografía (HPLC)	3	5,3
Genotipado	2	3,5
PCR	1	1,8
Total	57	100,0

^aUn participante utilizó también la hibridación inversa.

^bUn participante utilizó también HPLC.

El estudio de sensibilidad a los antibióticos fue realizado por 20 de los 57 laboratorios que respondieron (35,1%). Diez (50,0%) emplearon el método de difusión (disco-placa) y siete las tiras de E-test®. Finalmente, dos centros informan que realizaron la determinación de la CMI por la marca comercial Wider y en un centro se empleó el método de la microdilución de Microscan. Cinco laboratorios refieren haber empleado dos métodos de estudio de sensibilidad. Tres de ellos, además del E-test® realizaron el método de difusión; otro, la determinación de la CMI y el método de disco-placa y, por último, otro participante informó la utilización del método radiométrico Bactec® además del método de difusión. El empleo de una u otra técnica pudo variar según el antibiótico estudiado.

Tabla 4. Métodos empleados en el estudio de sensibilidad.

Método	Número	%
Disco-placa	10	50,0
E-test®	7	35,0
CMI	2	10,0
Microdilución	1	5,0
Total	20	100,0

Cabe destacar la amplia variedad de antibióticos estudiados por el conjunto de participantes y el hecho de que los antituberculosos clásicos (rifampicina, isoniacida, etambutol y estreptomina) son informados por dos (10%) de los 20 centros que realizan el estudio de sensibilidad. Para ambos laboratorios, la cepa enviada es resistente a los cuatro tuberculostáticos, dando uno de ellos las siguientes CMI: rifampicina 8 µg/ml, isoniacida >256 µg/ml, estreptomina >256 µg/ml y etambutol 32 µg/ml.

Por lo que respecta a otros antimicrobianos (tabla 5), es conocido que la mayoría de las cepas de *M. chelonae* son más resistentes que las de *M. fortuitum*, y que *M. chelonae* lo es habitualmente a la amikacina. El laboratorio de referencia consideró que la cepa era de sensibilidad intermedia a este antibiótico, a diferencia de la mayoría de participantes que la informó como sensible. También, suele mostrar sensibilidad al imipenem, tobramicina y eritromicina, lo que concuerda con los resultados aportados por los participantes y con el laboratorio de referencia. En cuanto a las quinolonas, se sabe que la mayoría de las cepas de *M. chelonae* suelen ser resistentes, circunstancia que no se produce en la cepa remitida en este control de calidad. Otro antibiótico clave es la claritromicina, que suele ser activo frente a la micobacteria en cuestión, al contrario que las cefalosporinas, tetraciclinas y cotrimoxazol. En todos éstos, la mayor parte de resultados son coincidentes con los del laboratorio de referencia. El resto de antibióticos fueron estudiados por un número no significativo de participantes y no quedan reflejados en la tabla.

Tabla 5. Resultados del estudio de sensibilidad.

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente	Total
Amikacina	13	1	4	18
Amoxicilina-clavulanato	1	–	4	5
Cefalosporinas	–	–	2	2
Cefoxitina	–	1	13	14
Ciprofloxacino	16	–	1	17
Claritromicina	10	–	–	10
Cotrimoxazol	1	–	13	14
Eritromicina	7	1	–	8
Etionamida	1	–	–	1
Gentamicina	–	1	1	2
Imipenem	10	–	2	12
Ofloxacino	4	–	–	4
Tobramicina	7	1	–	8
Tetraciclinas / doxiciclina	–	–	9	9
Vancomicina	1	–	1	2

COMENTARIOS

En primer lugar, cabe señalar que la utilización de laboratorio de referencia es escasa, ya que de los 57 centros, 42 (73,7%) afirma no emplear este recurso y tan sólo siete (12,3%) dicen que sí recurren a él, de los cuales tres lo hacen parcialmente. Hay, además, 10 laboratorios (17,5%) que no informan sobre la cuestión. Se deduce de esto que un porcentaje elevado de los laboratorios que participan en el control de calidad dispone de suficientes recursos manuales o técnicos para llevar a cabo la identificación de esta micobacteria.

El apartado de comentarios se suele emplear por los participantes para hacer referencias adicionales a los métodos de identificación. Así, hay tres laboratorios que dicen utilizar sondas específicas para otras micobacterias, como *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. avium* y *M. goodii*, con resultados negativos, lo que les permite descartarlas y llegar a una identificación genérica como micobacteria no tuberculosa.

Un total de 38 centros (66,7%) hacen algún comentario sobre la cepa remitida, las opciones terapéuticas u otros aspectos clínicos del caso. Nueve respuestas incluyen comentarios sobre la significación clínica, la mayoría de ellos (ocho) favorables a su implicación como responsable en cuadros de peritonitis en pacientes sometidos a diálisis peritoneal. También se hacen comentarios acerca de su papel en infecciones asociadas a catéteres, heridas quirúrgicas o postraumáticas, infecciones nosocomiales y en pacientes inmunodeprimidos. En un caso, se propone la revisión del circuito de diálisis agua y de los antisépticos utilizados para las curas en busca del foco de origen. Tan sólo un participante considera que se trata de una micobacteria ambiental no patógena.

En cuanto al tratamiento, existe diversidad de propuestas, a pesar de que sólo en cinco respuestas se hacen comentarios al respecto. Uno de ellos afirma que la micobacteria que nos ocupa es resistente a los antituberculosos clásicos, y el resto se debate entre distintas opciones que incluyen claritromicina, tobramicina, ciprofloxacino, doxiciclina o minociclina, amikacina, y cefoxitina con un tiempo superior a los tres meses (entre 4-6 meses).

Por otra parte, dos de los participantes apuntaron que el tubo de Löwestein-Jensen original les llegó contaminado, por lo que al tener que descontaminar primero no pudieron realizarse correctamente todas las pruebas de identificación clásicas y otros dos centros informan que la cepa no fue viable en pases sucesivos, lo que impidió a uno la identificación y a otro la realización del antibiograma. Finalmente, dos participantes señalaron la imposibilidad de realizar el estudio de sensibilidad por la recepción tardía de la muestra.