

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-2/02)

En el presente control se envió a los distintos laboratorios participantes una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* en medio de Löwestein-Jensen. Había sido aislada de una paciente de 45 años de edad que acudió a la consulta de Urología por presentar un dolor continuo en la fosa lumbar derecha, de cuatro meses de evolución, que cedía levemente con espasmolíticos y se acompañaba de un síndrome irritativo miccional con tenesmo, polaquiuria y nicturia. Como antecedentes destacaba que había sufrido un episodio de un cólico nefrítico con expulsión del cálculo. No presentaba manifestaciones clínicas pulmonares y, en la exploración, se observaba una maniobra de puñopercusión positiva, sin otros hallazgos de interés. El sedimento urinario presentaba leucocituria y microhematuria y los cultivos bacteriológicos habituales fueron negativos. La radiografía de tórax no evidenciaba signos patológicos pero la TAC abdomino-pélvica mostró una ureterohidronefrosis derecha con áreas de estenosis en la pelvis renal y la parte distal del uréter. Se enviaron a Microbiología tres muestras de orina para cultivo de micobacterias. A los 30 días de incubación, crecieron en el medio de Löwenstein-Jensen unas colonias, cuya tinción de Ziehl-Neelsen mostró bacilos ácido-alcohol resistentes. Se solicitó a los participantes que llevaran a cabo la identificación de esta cepa y, si fuera procedente, realizaran pruebas de sensibilidad, así como que formularan comentarios y sugerencias tanto técnicas como de valoración clínica del caso.

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

**Tabla 1. Identificación de la cepa de *M. tuberculosis* según el laboratorio que actuó de referencia<sup>a</sup>**

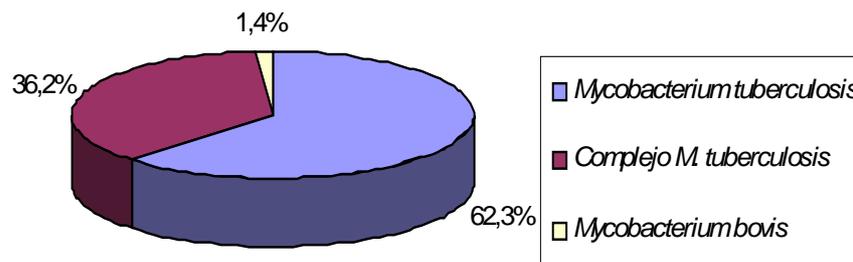
Característica / Prueba bioquímica	Resultado
Crecimiento a 37°C	+
Crecimiento a 45°C	-
<b>Crecimiento lento(&gt; 7 días)</b>	<b>+</b>
<b>Colonias lisas (S) o rugosas (R)</b>	<b>R</b>
<b>Cromogenicidad</b>	<b>-</b>
Arilsulfatasa (3 días)	-
<b>Reducción de nitratos</b>	<b>+</b>
<b>Pirazinamidasa</b>	<b>+</b>
Crecimiento en McConkey sin cristal violeta	-
<b>Catalasa a 68°C</b>	<b>-</b>
<b>Niacina</b>	<b>+</b>
Tolerancia NaCl 5% (28°C)	-
Resistencia al TCH	+

<sup>a</sup>En negrita, las pruebas clave.

Se recibieron 69 cuestionarios de los 86 enviados, lo que supone un porcentaje de participación real del 80,2%, puesto que todas las hojas de respuesta recibidas comunicaron la identificación de la cepa. Como puede observarse en la tabla 2, el nivel de acierto es muy elevado, dado que el 100% de los participantes clasifica la micobacteria dentro del complejo *M. tuberculosis*. Con la excepción de un participante que identifica la cepa como *Mycobacterium bovis* el resto, o bien la encuadra simplemente dentro de dicho complejo (36,2%), o llega a la identificación de especie *M. tuberculosis* (62,3%); ambas respuestas fueron consideradas como válidas por el Control de Calidad.

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

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	43	62,3
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	25	36,2
<i>Mycobacterium bovis</i>	1	1,4
Total	69	100,0



De los 69 centros que llevaron a cabo la identificación, 64 indican el método utilizado. Las sondas de ácidos nucleicos comerciales son empleadas por el 79,7% de los participantes (tabla 3). Cabe señalar que 15 de los 55 participantes que basan su identificación en el uso de una sonda comercial utilizan, además, las pruebas bioquímicas convencionales como complemento en su metodología de identificación. Llama la atención el participante que dice identificar la cepa mediante microscopía.

**Tabla 3. Métodos utilizados para la identificación**

Identificación	Número	%
Sonda	55	79,7
No informa	5	7,2
Hibridación inversa	4	5,8
Pruebas bioquímicas	2	2,9
PCR	2	2,9
Microscopía	1	1,5
Total	69	100,0

En la tabla 4 queda reflejada la relación de métodos y equipos comerciales empleados en la identificación de la cepa enviada. Como puede observarse, existe una gran uniformidad en cuanto a los equipos empleados, de modo que de los 55 participantes que usaron sondas comerciales de ácidos nucleicos, 38 centros (69,1%) afirman que la marca fue Accuprobe®/Gen-Probe y los restantes 17 (30,9%) no informan de ésta. Por otro lado, son cuatro los laboratorios que utilizaron la hibridación inversa como método de identificación y en tres casos refieren explícitamente el equipo comercial de InnoLipa® (Innogenetics). Los restantes métodos (PCR, pruebas bioquímicas, etc.) se utilizaron en un número menor de ocasiones. Como es obvio, aquellos que emplearon las pruebas bioquímicas no hacen referencia a ningún equipo en particular.

**Tabla 4. Métodos y marcas comerciales utilizados para la identificación**

Método	Accuprobe®	InnoLipa®	Amplicor®	Manual	No informa	Total Número	%
Sonda	38	-	-	-	17	55	79,7
No informa	-	-	-	-	5	5	7,2
Hibridación inversa	-	3	-	-	1	4	5,8
Bioquímica	-	-	-	2	-	2	2,9
PCR	-	-	1	-	1	2	2,9
Microscopía	-	-	-	1	-	1	1,5
Total	38	3	1	3	24	69	100,0

Es importante señalar que tanto el equipo de InnoLipa® como las sondas de Accuprobe® sólo pueden llegar a identificar la cepa como perteneciente al complejo *M. tuberculosis*, de modo que, para llegar al nivel de especie, sería necesario completar el estudio con algún otro método adicional, como las pruebas bioquímicas. En este sentido cabe señalar que de los 33 participantes que emplearon la sonda y dieron como resultado de su identificación *M. tuberculosis*, tan sólo 12 afirman en sus comentarios haber usado también pruebas bioquímicas convencionales. En el caso de los tres que emplearon la hibridación inversa de Innogenetics, el único que informó *M. tuberculosis* sí comentó haber realizado pruebas bioquímicas.

El estudio de sensibilidad a los antibióticos fue realizado por 45 de los 69 centros analizados (65,2%). Como se observa en la tabla 5, el método de dilución en medio líquido es el empleado mayoritariamente por 32 participantes (71,1%). El resto de métodos apenas si tienen importancia porcentual, aunque cabe destacar que seis centros (13,3%) no informan sobre la técnica empleada.

**Tabla 5. Métodos empleados en el estudio de sensibilidad.**

Método	Número	%
Dilución en medio líquido	32	71,1
No informa	6	13,3
E-test	4	8,9
Proporciones	3	6,7
Total	45	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados para llevar a cabo el estudio de sensibilidad, destacan en primer lugar los equipos automatizados de Becton Dickinson (BD) tanto el método fluorométrico como el radiométrico que en conjunto suman un 48,9% del total de marcas utilizadas. En tercer lugar, se encuentra el equipo de MB/Bact® de bioMérieux con un 20%, que también usa el método de la dilución en medio líquido. Un número elevado de centros (17,8%) no informan acerca de la marca comercial empleada. El resto de equipos apenas si tienen significación estadística. Todos estos datos están reflejados en la tabla 6. Por lo que respecta a los antibióticos estudiados, el espectro es bastante restringido, siendo los antituberculosos clásicos (rifampicina, isoniacida, etambutol, estreptomina y pirazinamida) los fármacos estudiados por la mayoría de los centros. Todos los resultados están resumidos en la tabla 7.

**Tabla 6. Marcas empleadas en el estudio de sensibilidad.**

Marca	Número	%
Bactec®MGIT 960 (BD)	13	28,9
Bactec® 460 TB (BD)	9	20,0
MB/Bact® (bioMeriéux)	9	20,0
No informa	8	17,8
Otros	6	12,2
<b>Total</b>	<b>45</b>	<b>100,0</b>

**Tabla 7. Distribución de resultados según los antibióticos estudiados**

Antibiótico	Sensible	Resistente	Pendiente	No interpreta	Nº Total
Rifampicina	42	1	1	-	44
Etambutol	43	-	1	-	44
Isoniacida	42	-	1	-	43
Estreptomina	39	-	1	-	40
Pirazinamida	17	2	-	-	19
PAS	1	-	-	1	2
Etionamida	2	-	-	-	2
Amikacina	1	-	-	-	1
Capreomicina	1	-	-	-	1
Cicloserina	1	-	-	-	1
Imipenem	1	-	-	-	1
Kanamicina	1	-	-	-	1
Ofloxacino	1	-	-	-	1

La rifampicina es estudiada por 44 participantes (97,8%) de los 45 que realizan antibiograma; de ellos 42 centros informan la cepa sensible a dicho antibiótico con un amplio intervalo de CMI cuyo valor modal es 1 µg/mL. Tan sólo un participante informa resistencia a este antibiótico y otro deja el resultado pendiente del laboratorio de referencia. La isoniacida es estudiada por 43 participantes, informando de la sensibilidad de la cepa en 42 ocasiones, con unas CMI cuyo valor modal fue de 0,1µg/mL. La estreptomina es estudiada por 40 centros y es informada como sensible por 39, con una CMI cuyo valor modal es 1 µg/mL. El etambutol es informado por 44 laboratorios, mostrándose la cepa sensible al mismo en 43 ocasiones con un valor modal para la CMI de 5 µg/mL. Finalmente, la pirazinamida es estudiada por 19 centros (42,2%) de los que hacen estudio de sensibilidad, resultando la cepa sensible para 17 participantes. Todos estos resultados coinciden con los aportados por el centro de referencia para el que la cepa muestra sensibilidad a todos los antibióticos anteriormente citados.

#### USO DEL LABORATORIO EXTERNO

La utilización del laboratorio de referencia es escasa ya que, de los 69 centros, 49 (71,0%) afirman no emplear este recurso, 10 participantes (14,5%) no informan sobre tal cuestión y 10 centros (14,5%) dicen que sí recurren a él, de los cuales cinco lo hacen parcialmente (tres de éstos últimos especifican que envían la cepa para el estudio de sensibilidad). Esto demuestra que un porcentaje elevado de los laboratorios que participan en el Control de Calidad dispone de suficientes recursos manuales y técnicos para llevar a cabo el estudio de micobacterias.

#### COMENTARIOS

Un total de 37 centros (53,6%) hacen algún comentario sobre la cepa remitida por el Control de Calidad, su tratamiento o métodos empleados en su estudio. Con respecto a los métodos empleados para la identificación de la cepa, como ya se ha comentado anteriormente, son 17 los centros que informan haber completado la técnica principal de identificación con la realización de pruebas bioquímicas, dos laboratorios emplearon las características fenotípicas y otros dos la PCR.

En cuanto al significado clínico del aislado, tan sólo hay un centro que comenta que las manifestaciones clínicas descritas en el caso eran compatibles con un cuadro de tuberculosis renal. El tratamiento es comentado por dos de los participantes coincidiendo ambos en la pauta a seguir: isoniacida, rifampicina y pirazinamida durante los dos primeros meses y luego isoniacida y rifampicina durante cuatro meses más. Cabe señalar que uno de los participantes, que encuentra resistencia a la pirazinamida, se apoya en este hecho para afirmar que se podría tratar de un *Mycobacterium bovis*.

Finalmente, hay que señalar que 13 centros indican en su comentario que envían de forma rutinaria las cepas al laboratorio de referencia para realizar el estudio de sensibilidad. Esto, junto al hecho de que son siempre muchos menos centros los que realizan antibiograma que identificación, nos permite pensar que los medios técnicos para la realización de los estudios de sensibilidad de micobacterias están más restringidos entre nuestros participantes.