

CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-1/07)

En el presente control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium szulgai* en medio de Löwestein-Jensen. Había sido aislada de un paciente varón de 59 años de edad, con antecedentes de tabaquismo y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que acudió a urgencias por presentar en las últimas dos semanas deterioro de su estado general, astenia, pérdida del apetito, tos persistente, disnea y expectoración purulenta. A pesar de haber iniciado tres días antes tratamiento antibiótico con amoxicilina-clavulanato, el paciente no refería mejoría, presentando en el momento de la exploración fiebre de 37,8°C. La radiografía de tórax mostró una opacidad cavitada en la porción apical del pulmón derecho. Se recogieron muestras de esputo que fueron remitidas al laboratorio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. La tinción de Ziehl-Neelsen de la muestra fue negativa, pero a los 12 días de incubación creció en medio de Löwestein-Jensen la micobacteria que ha sido el objeto del presente control. El paciente recibió un régimen terapéutico con antituberculosos de primera línea, constatándose la negativización del esputo.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** de la micobacteria implicada en este cuadro clínico y si procedía, la realización del estudio de sensibilidad, así como formular los **comentarios** técnicos o clínicos que se considerasen oportunos.

La cepa fue identificada como *M. szulgai* por el laboratorio que actuó de referencia mediante pruebas bioquímicas, métodos moleculares (hibridación inversa) y secuenciación.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

Se envió la cepa a un total de 103 participantes, de los que 74 remitieron hoja de respuesta. Uno de ellos informaba que este estudio no se realizaba en su laboratorio, por lo que se recibieron un total de 73 hojas de respuesta con resultados valorables, siendo el porcentaje de participación real del 70,9%.

Como puede observarse en la tabla 1, todos los laboratorios encuadraron correctamente la cepa dentro del grupo de las micobacterias. Dado el nivel de dificultad, se alcanzó un porcentaje de aciertos aceptable, si tenemos en cuenta que el 80,9% de los participantes realizó una correcta identificación de especie, que fue considerada suficiente por parte del Programa de Control de Calidad SEIMC.

Un notable porcentaje de centros (9,7%) tan sólo realizó una aproximación genérica como micobacteria no tuberculosa o atípica. El resto de las identificaciones quedan reflejadas en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación de la cepa.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium szulgai</i>	57	78,1
<i>Mycobacterium</i> (no <i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	3	4,1
Género <i>Mycobacterium</i>	3	4,1
<i>Mycobacterium kansasii</i>	2	2,7
<i>Mycobacterium intermedium/szulgai</i>	1	1,4
<i>M. szulgai /flavescens/ thermoresistibile</i>	1	1,4
<i>Mycobacterium interjectum</i>	1	1,4
Micobacteria fotocromógena de crecimiento lento	1	1,4
Micobacteria escotocromógena de crecimiento lento	1	1,4
Micobacteria escotocromógena de crecimiento rápido	1	1,4
Micobacteria atípica	1	1,4
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1	1,4
Total	73	100,0

Por lo que respecta a los métodos utilizados para la identificación, de los 73 centros que enviaron hoja de respuesta, fueron cinco los participantes (6,8%) que no aportaron información al respecto. El método mayoritariamente empleado por los participantes fue la bioquímica convencional (39,7%), aunque en el 20,5% de los casos se usó en combinación con diversas técnicas moleculares (PCR-RFLP, secuenciación, etc.). Las pruebas de hibridación inversa, fueron empleadas por 26 centros (35,6%), solas o junto a otros métodos. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas destaca, en primer lugar, el elevado número de participantes que no aportan información sobre el equipo comercial usado (25,6%), lo que se explica si consideramos, por una parte, los centros que recurren a un laboratorio externo y, por otra, los que emplean métodos moleculares no comerciales. Como se puede observar en la tabla 3, de los 26 centros que realizan una técnica de hibridación inversa, el 61,5% emplean para ello el equipo comercial Genotype *Mycobacterium*, y el 38,5% el de INNO-LiPA® (Innogenetics) mostrando, en general, un excelente índice de acierto en la identificación. Sin embargo, llama la atención que, para llegar a la identificación de especie, es necesario complementar la primera de las técnicas de hibridación inversa con pruebas bioquímicas y, sin embargo, algunos laboratorios lo informaron como técnica única. Finalmente, fueron seis (14,0%) los centros que emplearon una sonda de ácidos nucleicos en la identificación e informaron la marca Accu-probe/Gen-probe® de bioMérieux; en ninguno de estos seis casos se pudo lograr una correcta identificación de especie.

Tabla 2. Métodos utilizados para la identificación.

Método Identificación	Número	%
Hibridación inversa	17	23,3
Pruebas bioquímicas	14	19,2
PCR-RFLP	6	8,2
Sonda	6	8,2
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	5	6,8
Secuenciación	4	5,5
Métodos moleculares	3	4,1
Pruebas bioquímicas + PRA + secuenciación	2	2,7
Bioquímica + hibridación inversa + PCR-RFLP	2	2,7
Bioquímica + PCR-RFLP	2	2,7
Pruebas bioquímicas + secuenciación	1	1,4
Pruebas bioquímicas + métodos moleculares	1	1,4
Bioquímica + hibridación inversa + secuenciación	1	1,4
Bioquímica + sonda + genotipado	1	1,4
Características morfo-culturales	1	1,4
Hibridación inversa + PCR-RFLP	1	1,4
PCR-RFLP + secuenciación	1	1,4
No informa	5	6,8
Total	73	100,0

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Equipo comercial	Número	%
Genotype <i>Mycobacterium</i>	15	34,9
INNO-LiPA® Innogenetics	8	18,6
Accuprobe/Gen-Probe® bioMérieux	5	11,6
Gen Probe® bioMérieux + INNO-LiPA® Innogenetics	1	2,3
INNO-LiPA® + Genotype <i>Mycobacterium</i>	1	2,3
Microseq 500	1	2,3
Hain (Soria Melguizo)	1	2,3
No informa	11	25,6
Total	43	100,0

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS FÁRMACOS ANTIMICOBACTERIANOS

El estudio de sensibilidad fue realizado por 21 (28,8%) de los 73 centros que enviaron hoja de respuesta con resultado evaluable. De ellos, seis participantes (8,2%) no aportaron datos sobre el método empleado. Del resto, cabe destacar que el 42,9% de los centros emplearon un método de dilución en medio líquido, tratándose en todos los casos de un sistema automatizado, sólo o en combinación con otras técnicas. El 23,9% de los centros empleó el E-test®, y el 14,3% usó el método de las proporciones, en uno de los casos en combinación con otra técnica.

Tabla 4. Métodos empleados en la sensibilidad.

Método	Número	%
Dilución en medio líquido	5	23,8
E-Test®	3	14,3
Dilución en medio líquido + microdilución	2	9,5
Proporciones	2	9,5
Dilución en medio líquido + disco-placa	1	4,8
Dilución en medio líquido + E-Test®	1	4,8
Proporciones + E-Test®	1	4,8
No informa	6	28,6
Total	21	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados destacan, en primer lugar, y como cabría esperar al analizar los métodos empleados, los sistemas automatizados de Becton-Dickinson, en concreto el Bactec®MGIT 960, que fue usado por el 19,0% de los participantes. Cabe señalar el considerable porcentaje de centros que no aportaron información acerca de la marca comercial. El resto de equipos empleados quedan reflejados también en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas comerciales empleadas en el estudio de sensibilidad.

Marca	Número	%
Bactec® MGIT 960 Becton-Dickinson	4	19,0
Bactec® 460 TB Becton-Dickinson	1	4,8
Bactec® sin especificar	2	9,5
Manual	2	9,5
bioMérieux + Izasa	1	4,8
Izasa	1	4,8
BacT Alert	1	4,8
AB Biodisk	1	4,8
AB Biodisk + BacT Alert	1	4,8
No informa	7	33,3
Total	21	100,0

Por lo que respecta a los antibióticos estudiados, en la tabla 6 se muestran los resultados de sensibilidad aportados por el laboratorio que actuó como centro de referencia.

Tabla 6. Sensibilidad según el laboratorio de referencia.

Antibiótico	Interpretación	CMI (µg/mL)
Estreptomina	S	–
Isoniazida	R	–
Rifampicina	S	–
Etambutol	S	–
Pirazinamida	R	–
Claritromicina	S	0,125
Azitromicina	S	1
Ciprofloxacino	S	2
Linezolid	S	1
Moxifloxacino	S	1

Entre los datos aportados por los participantes destaca la amplia variedad de antibióticos ensayados; pese a ello, y dado que no existe un antibiograma estandarizado, desde el Control de Calidad SEIMC se ha considerado comentar sólo los resultados obtenidos con respecto a los antituberculosos clásicos y alguno de los fármacos que fueron informados por el laboratorio de referencia.

Como se puede observar en la tabla 7, los resultados obtenidos frente a la rifampicina, etambutol y pirazinamida muestran unos porcentajes de concordancia con el centro de referencia bastante elevados, pero para la isoniazida dicho porcentaje desciende bastante y, en el caso de la estreptomina, 10 laboratorios de los 19 que la estudian (52,6%) aportaron un resultado cualitativo discordante con el centro de referencia.

Tabla 7. Distribución de los resultados de sensibilidad.

Antibiótico	Sensible	Resistente	No interpreta	Total	Concordancia (%)
Rifampicina	19	1	1	21	90,5
Isoniazida	4	16	1	21	76,2
Etambutol	18	1	1	20	90,0
Estreptomina	8	10	1	19	42,1
Pirazinamida	1	11	–	12	91,7
Etionamida	9	–	–	9	–
Claritromicina	8	–	–	8	100,0
Ciprofloxacino	6	1	–	7	85,7
Linezolid	6	–	–	6	100,0
Amikacina	6	–	–	6	100,0
Kanamicina	6	–	–	6	–
Moxifloxacino	4	–	–	4	100,0
Azitromicina	2	–	–	2	100,0

USO DE LABORATORIO EXTERNO

De los 73 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 50 (68,5%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 20 centros (27,2%) indicaron que sí lo habían utilizado, nueve de ellos (12,1%) de forma parcial. Tres participantes (4,1%) no aportaron información al respecto.