

CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-2/08)

En este control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium marinum*, en medio de Löwenstein-Jensen. Había sido aislada de un varón de 55 años de edad, sin antecedentes patológicos de interés, que presentó un nódulo de 6 meses de evolución en el dorso de la mano derecha. Inicialmente, se presentó como una lesión papular sobre una herida traumática superficial que se había hecho mientras limpiaba su acuario de peces tropicales. La lesión presentó una evolución tórpida, con tendencia a la ulceración, y aparición posterior de un nódulo satélite en el antebrazo y adenopatías regionales. Se realizó una biopsia de las lesiones, mostrando una inflamación granulomatosa crónica no necrosante. Además, se remitieron muestras de exudado y tejido al laboratorio de Microbiología para tinción y cultivo de micobacterias. A pesar de que la tinción de Ziehl Neelsen directa fue negativa, a partir de los cultivos incubados a 30°C se obtuvo, a los diez días, el crecimiento de la micobacteria objeto del presente control.

Se solicitó a los centros participantes la **identificación de la micobacteria** implicada en este caso clínico y el estudio de sensibilidad, si se creía conveniente, así como los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos. La cepa fue identificada, mediante métodos moleculares, como *M. marinum* por el laboratorio que actuó de referencia.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 106 centros participantes, de los que 82 remitieron la hoja de respuesta con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 77,3%, algo inferior al del último control de micobacteriología, que fue del 84,9%. Sin embargo, como puede observarse en la tabla 1, todos los laboratorios encuadraron la cepa dentro del grupo de las micobacterias y, además, la mayoría (el 93,9%) identificó correctamente la especie. Este porcentaje fue muy superior al del último control de micobacterias, que fue del 70,0%.

Tabla 1. Resultados de la identificación de la cepa.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium marinum</i>	77	93,9
Género <i>Mycobacterium</i>	3	3,7
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1	1,2
<i>Mycobacterium kansasii</i>	1	1,2
Total	82	100,0

Por lo que respecta a los métodos utilizados para la identificación (tabla 2), de los 82 centros que enviaron la hoja de respuesta, fueron cinco los participantes (6,1%) que no aportaron información al respecto, de los cuales tres de ellos recurrieron a un laboratorio externo de referencia. Los participantes emplearon mayoritariamente los métodos moleculares, en particular la hibridación inversa que fue utilizada, sola o combinada con otras técnicas (pruebas bioquímicas, PCR-RFLP, secuenciación), por 49 centros (el 60,0%). En segundo lugar destacan las pruebas bioquímicas clásicas, que fueron utilizadas en 23 centros (el 28,0%), a veces junto a métodos moleculares.

Tabla 2. Métodos utilizados para la identificación.

Método	Número	%
Hibridación inversa	42	51,2
Pruebas bioquímicas	13	15,9
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	6	7,4
Sonda	..3	3,7
Secuenciación	3	3,7
Pruebas bioquímicas + características morfológicas	2	2,4
PCR-RFLP ^a	2	2,4
Pruebas bioquímicas + secuenciación	1	1,2
Pruebas bioquímicas + PCR-RFLP ^a	1	1,2
Características morfológicas	1	1,2
Velocidad de crecimiento + fotosensibilidad	1	1,2
Hibridación inversa + características morfológicas	1	1,2
Hibridación inversa + secuenciación	1	1,2
No informa	5	6,1
Total	82	100,0

^aPCR: reacción en cadena de la polimerasa; RFLP: *restriction fragment length polymorphism*.

Este control demuestra, de nuevo, la mejora en la identificación de la cepa con la incorporación de los métodos moleculares. Así, todos los centros que usaron un método molecular basado en amplificación genética, a veces asociados a pruebas bioquímicas, identificaron correctamente la especie. De los cinco participantes que no acertaron en la identificación de la especie, dos usaron sondas genéricas, uno pruebas bioquímicas, otro la velocidad de crecimiento junto con el estudio de fotosensibilidad, y el último no informó del método empleado.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, como se puede observar en la tabla 3, los centros que informaron una técnica de hibridación inversa, usaron la mayoría el Genotype® *Mycobacterium* (el 36,6%), seguido del

INNO-LiPA® de Innogenetics (18,3%); ambas marcas mostraron un excelente índice de aciertos (100,0%). Tres centros emplearon una sonda para la identificación, de los que sólo uno informó la marca (Accuprobe/Gen-probe®, bioMérieux), aunque fue para la detección de *Mycobacterium tuberculosis*, obviamente incapaz de identificar *M. marinum*. Un buen número de laboratorios no aportó información sobre el equipo comercial usado (el 23,2%) lo que se explica, en parte, por el uso de un laboratorio externo, pero también por el empleo de métodos moleculares no comerciales.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Genotype <i>Mycobacterium</i>	30	36,6	100,0
Manual	17	20,8	88,2
Innolipa (Innogenetics)	15	18,3	100,0
Accuprobe® (bioMérieux)	1	1,2	0,0
No informa	19	23,2	89,5
Total	82	100,0	93,9

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS FÁRMACOS ANTIMICOBACTERIANOS

El estudio de sensibilidad fue realizado por 21 (25,6%) de los 82 centros que enviaron la hoja de respuesta con resultado evaluable (tabla 4). Las dos técnicas empleadas mayoritariamente fueron el E-test® (38,1% de los participantes que hicieron el antibiograma, el 28,5% como método único) y la dilución en medio líquido (33,3% de éstos, el 23,8% de forma aislada). Finalmente, cuatro participantes (19,0%) no aportaron datos sobre el método empleado.

Tabla 4. Métodos empleados en el estudio de sensibilidad.

Método	Número	%
E-test®	6	28,5
Dilución en medio líquido	5	23,8
No informa	4	19,0
Disco-placa	2	9,5
Disco-placa + E-test®	1	4,8
Microdilución	1	4,8
Dilución en medio líquido + microdilución	1	4,8
Dilución en medio líquido + E-test®	1	4,8
Total	21	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, los más frecuentes fueron el E-test® (8 centros) y el sistema automático Bactec® MGIT 960 de Becton-Dickinson (3 participantes). Dos laboratorios utilizaron un método manual y uno el sistema BacT-Alert® de bioMérieux. En 7 ocasiones no se aportó información acerca de la marca comercial, donde incluiríamos algunos de los participantes que remitieron la cepa a un laboratorio externo de referencia.

Los resultados de sensibilidad del laboratorio de referencia se exponen en la tabla 5, aunque precisa que no existen criterios estándar para su interpretación, ni necesidad de realizarlos a menos que haya un fallo terapéutico. Se observa coincidencia de los resultados de los participantes para los fármacos de la tabla 5, siendo las discrepancias anecdóticas. Hay también coincidencia en considerar resistencia a la isoniácida, p-aminosalicílico y pirazinamida.

Tabla 5. Resultados de sensibilidad aportados por el laboratorio de referencia.

Fármaco	CMI	Interpretación	Fármaco	CMI	Interpretación	Fármaco	CMI	Interpretación
Amikacina	0,5	S	Ciprofloxacino	1	S	Minociclina	2	S
Azitromicina	4	S	Moxifloxacino	0,5	S	Linezolid	0,5	S
Claritromicina	0,25	S	Etambutol	≤5	S	Rifampicina	≤1	S

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De los 82 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 64 (78,0%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 9 centros indicaron que sí lo habían utilizado (11,0%), y 6 centros (7,3%) lo utilizaron parcialmente. Hubo 3 participantes (3,7%) que no aportaron información al respecto. Así, de manera similar a lo que ha ocurrido en los últimos controles, y a la vista de los resultados obtenidos, se puede decir que una parte considerable de los laboratorios que participan en el Programa de Control de Calidad disponen de los recursos técnicos para realizar la identificación de las micobacterias no tuberculosas, debido a la progresiva incorporación de las técnicas moleculares.

COMENTARIOS

Trece participantes comentaron que el estudio de sensibilidad no estaba indicado, salvo mala respuesta al tratamiento. Cuatro comentarios se refirieron a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con claritromicina y etambutol. Tres centros indicaron que el estudio de sensibilidad estaba todavía en curso.