

CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-1/02)

En el presente control se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium thermoresistibile* en medio de Löwestein-Jensen que había sido aislada de un paciente varón de 25 años, que acudió a la consulta de Dermatología, por presentar unas lesiones cutáneas en el miembro superior derecho de ocho semanas de evolución. En la exploración, se observó un nódulo en la cabeza del cuarto metacarpiano de la mano derecha, dos pequeños nódulos en el antebrazo, varias lesiones hiperqueratósicas-nodulares en el dorso de la mano y diversas adenopatías regionales. Como antecedentes de interés, el paciente tan sólo refería haber sufrido un corte en su mano derecha, mientras trabajaba en la lonja de su ciudad.

Se tomaron muestras de las lesiones y se remitieron al laboratorio de Microbiología, donde se realizaron cultivos bacteriológicos y fúngicos convencionales, con resultado negativo para todos ellos. La prueba de la tuberculina fue positiva. Se enviaron nuevas muestras para tinción y cultivo de micobacterias, siendo las tinciones negativas pero, a los 11 días de incubación, se observó el crecimiento de unas colonias compatibles con una micobacteria. Se solicitó a los centros participantes, la identificación de esta cepa y que realizaran, si fuera procedente, las pruebas de sensibilidad pertinentes, así como formularan comentarios, sugerencias o una valoración clínica sobre el caso que nos ocupa.

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. thermoresistibile* según el laboratorio que actuó de referencia^a.

Característica / Prueba bioquímica	Resultado
Crecimiento a 37°C	+
Crecimiento a 45°C	+
Supervivencia a 60°C durante 4 h	+
Crecimiento rápido (<7 días)^b	+
Colonias lisas (S) o rugosas (R)	S/R
Escotocromogenicidad	+
Ariilsulfatasa (3 días)	-
Reducción de nitratos	+
FDA	-
Acumulación de hierro	-
Crecimiento en McConkey	-
Crecimiento en verde malaquita 100 µg/ml	-
Azul de toluidina	-
Acidificación arabinosa	-
Tolerancia NaCl 5% (28°C)	+
Actividad α-esterasa	+

^aEn negrita, la pruebas clave.

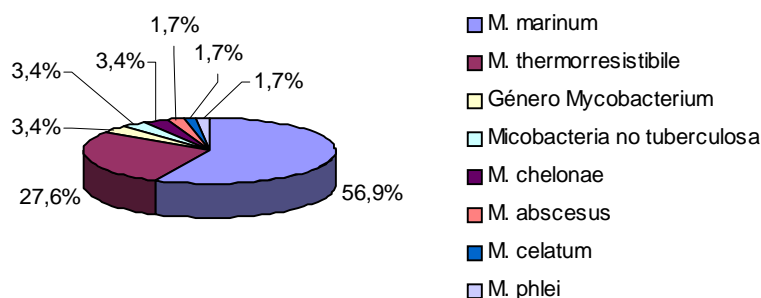
^bCrecimiento rápido en subcultivos; en el primer cultivo puede crecer lentamente debido a la temperatura.

Se recibieron 58 cuestionarios de los 80 enviados, lo que supone un porcentaje de participación real del 72,5%. Todos ellos llevaron a cabo la identificación de la cepa, encuadrándola correctamente dentro del grupo de las micobacterias. Como se puede observar en la tabla 2, de todas las respuestas recibidas, tan sólo 16 centros (27,6%), realizan una identificación coincidente con el laboratorio de referencia. Llama la atención que un número considerable de laboratorios, en concreto 33 (56,9%), emiten *M. marinum* como resultado final de la identificación. Es importante recordar a nuestros participantes la conveniencia de realizar un estudio lo más completo posible a la hora de valorar las cepas enviadas, pues muchas veces, aunque la historia clínica sea sugestiva, puede también inducirnos a error. En este caso, hay que recordar que *M. marinum* es una micobacteria de crecimiento rápido, fotocromógena, que crece a 30-32 °C, pero no a 37 °C, a diferencia de *M. thermoresistibile* que puede hacerlo a 45 °C.

En cuanto al resto de laboratorios, como puede observarse en la figura 1, aportan distintos resultados: dos de ellos, comentan que se trata de una "micobacteria no tuberculosa", dos aportan una identificación genérica, y otros dos afirman que se trata de *M. chelonae*. El resto de las respuestas recibidas corresponden a tres centros que informaron de tres micobacterias distintas: *M. abscesus*, *M. celatum* y *M. phlei*.

Tabla 2. Resultados de la identificación de la cepa.

Identificación	Nº	%
<i>Mycobacterium marinum</i>	33	56,9
<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	16	27,6
Mycobacteria no tuberculosa	2	3,4
<i>Mycobacterium chelonae</i>	2	3,4
Género <i>Mycobacterium</i>	2	3,4
<i>Mycobacterium abscesus</i>	1	1,7
<i>Mycobacterium celatum</i>	1	1,7
<i>Mycobacterium phlei</i>	1	1,7
Total	58	100,0



De los 58 laboratorios que llevaron a cabo la identificación, 8 centros (13,8%) no mencionan el método utilizado, identificando la cepa dos de ellos como *M. thermoresistibile* y seis de ellos como *M. marinum*. La realización de las pruebas bioquímicas clásicas fue empleada por 39 laboratorios (67,2%), en 29 de ellos de forma aislada o teniendo en cuenta las características morfo-culturales y en 10 junto con otros métodos de identificación (PCR-RFLP, sonda, secuenciación). Como puede observarse en la tabla 3, el resto de los participantes, emplea diversas técnicas moleculares, excepto dos que tan sólo se basan en las características morfo-culturales y que, curiosamente, coinciden en la identificación de la cepa como *M. marinum*.

De los 4 laboratorios que usaron las sondas como técnica de identificación, tan sólo 2 informaron la marca: Accuprobe®/Gen-Probe. Por otro lado únicamente un laboratorio informa la hibridación reversa como método, indicando que el equipo comercial es el de InnoLipa® (Innogenetics). Finalmente, cabe comentar que ninguno de los laboratorios que emplean la cromatografía (HPLC), PCR-RFLP, genotipado, etc. informa del equipo comercial utilizado.

Tabla 3. Métodos utilizados para la identificación.

Identificación	Número	%
Pruebas bioquímicas	16	27,6
Pruebas bioquímicas + características morfo-culturales	13	22,4
Pruebas bioquímicas + PCR-RFLP	5	8,6
Pruebas bioquímicas + sondas	3	5,2
Pruebas bioquímicas + métodos moleculares	1	1,7
Pruebas bioquímicas + secuenciación	1	1,7
Cromatografía (HPLC)	3	5,2
PCR-RFLP	3	5,2
Características morfo-culturales	2	3,5
Genotipado	1	1,7
Hibridación reversa	1	1,7
Sonda	1	1,7
No informa	8	13,8
Total	58	100,0

No se puede decir que exista una correlación clara entre el tipo de método empleado y la identificación correcta de la cepa, aunque bien es cierto que los laboratorios que combinaron pruebas bioquímicas y métodos moleculares tienen quizá mayor índice de acierto, mientras que los que se apoyan en las características morfo-culturales y pruebas bioquímicas tienden a realizar una identificación menos precisa, como los 19 laboratorios que, con estos métodos, identifican la micobacteria como *M. marinum*.

El estudio de sensibilidad a los antibióticos fue realizado por 23 (39,7%) de los 58 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa. De los que aportan datos, ocho (34,8%) emplearon las tiras de E-test®,. En segundo lugar, destaca el método de difusión, que es empleado por seis participantes (26,1%). Estos datos se resumen en la tabla 4. Cabe señalar que hay cinco laboratorios que refieren haber empleado dos métodos de estudio de sensibilidad: dos de ellos, además del método de difusión (disco-placa) emplearon también el método radiométrico Bactec® 460 y fluorométrico Bactec MGIT® 960. En ocasiones, el empleo de una u otra técnica variaba según el antibiótico probado. Generalmente, en los casos en que se utilizaban dos técnicas, el sistema Bactec® o el método de las proporciones eran empleados para los antituberculosos clásicos.

Tabla 4. Métodos empleados en el estudio de sensibilidad.

Método	Número	%
E-test®	8	34,8
Disco-Placa	6	26,1
No informa	5	21,8
Bactec	2	8,7
Método de las proporciones	1	4,3
Dilución en medio líquido	1	4,3
Total	23	100,0

En cuanto a los antibióticos probados, cabe destacar la amplia variedad de los mismos, lo que evidenciaría la falta de un criterio claro a la hora de elegir los fármacos ideales para este tipo de micobacteriosis, aunque también es cierto que son los tuberculostáticos clásicos, junto con la claritromicina, amikacina, cotrimoxazol y ciprofloxacino, las drogas mayoritariamente ensayadas. Los resultados se reflejan en la tabla 5, excepto los de los fármacos probados por un solo participante.

Tabla 5. Resultados de las pruebas de sensibilidad.

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente	Total
Rifampicina	6	1	9	16
Etambutol	15	-	-	15
Isoniacida	1	-	11	12
Claritromicina	12	-	-	12
Amikacina	11	-	-	11
SXT	9	-	2	11
Ciprofloxacino	9	1	-	10
Estreptomina	9	-	-	9
Tetraciclina	8	-	-	8
Pirazinamida	-	-	6	6
PAS	-	-	5	5
Imipenem	4	-	-	4
Etionamida	-	-	4	4
Cicloserina	3	-	-	3
Doxiciclina	3	-	-	3
Eritromicina	3	-	-	3
Kanamicina	3	-	-	3
Ofloxacino	3	-	-	3
Tobramicina	2	-	-	2
Ampicilina	2	-	-	2

A tenor de los datos aportados por los participantes, permite intuir un perfil de resistencia a la rifampicina (en este caso los resultados son más variables) y a la isoniacida, mientras que la sensibilidad de la cepa es evidente frente a la estreptomina, etambutol, claritromicina, amikacina, cotrimoxazol y ciprofloxacino. Estos resultados concuerdan con los aportados por el centro de referencia. Como puede observarse en la tabla 5, para la pirazinamida, PAS y etionamida aunque probados por un número menor de centros también se muestra un claro perfil de resistencia. Hay también una larga lista de antibióticos probados por un escaso número de participantes; a pesar de los bajos efectivos, se puede decir que, de forma genérica, la cepa se mostraba sensible a la mayoría de ellos.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

En primer lugar, cabe señalar que, de los 58 laboratorios que llevan a cabo la identificación de la cepa, 14 (24,1%) afirman haber utilizado un laboratorio de referencia, uno de ellos de forma parcial. Del resto, 10 centros (17,3%) no informan sobre tal cuestión y 34 (58,6%) participantes indican que no lo utilizan. Estas cifras vienen a corroborar, al igual que en el control anterior, que un porcentaje considerable de los laboratorios que participan en el Control de Calidad disponen de suficientes recursos manuales o técnicos para llevar a cabo el estudio de micobacterias.

COMENTARIOS

Un total de 29 centros (50,0%) hacen algún comentario sobre la cepa remitida por el Control de Calidad, su tratamiento o aspectos clínicos del caso. Con respecto a la significación clínica de la cepa, hay siete centros que realizan algún comentario. De ellos, cinco son los participantes que realizan una correcta identificación de la cepa como *M. thermoresistibile*, definiéndola como una micobacteria escotocromógena de crecimiento rápido, aislada con poca frecuencia de muestras clínicas, ubicada en el suelo, que podría ser patógena. Hay un participante que afirma que, aunque la historia clínica sugiere una infección por *M. marinum*, la identificación bioquímica y molecular claramente conduce a *M. thermoresistibile*. Este mismo participante indica que, para considerar esta cepa como patógeno responsable del cuadro, habría que descartar previamente otros, así como aislarla repetidamente de las muestras clínicas. Finalmente hay dos centros que identifican la cepa como *M. marinum*, y en sus comentarios hacen referencia a las lesiones cutáneas que causa esta micobacteria en relación con el agua.

En cuanto al tratamiento son nueve los centros que comentan algo al respecto, pero de éstos, ocho parten de una identificación incorrecta de la cepa, como es *M. marinum*. En general coinciden en recomendar: monoterapia con claritromicina, cotrimoxazol, doxiciclina o minociclina, o asociación de rifampicina y etambutol, con una duración de hasta 4 semanas tras la desaparición de las lesiones. El único participante que habla del tratamiento para *M. thermoresistibile*, tan sólo recomienda asociar de dos o más fármacos y aplicar a las lesiones un tratamiento tópico. Por último, siete participantes indicaron en sus comentarios que no existen pruebas de sensibilidad estandarizadas para *M. marinum* y *M. thermoresistibile*.