

CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-1/06)

En el presente control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium chelonae* en medio de Löwestein-Jensen. Había sido aislada de una mujer de 47 años de edad, dedicada a la jardinería, que acudió a la consulta externa de Cirugía por presentar una herida abscesificada de varios meses de evolución en el tercio inferior del muslo derecho. Dicha herida presentó una evolución tórpida, con afectación de tejido celular subcutáneo, pero sin celulitis, ni fiebre alta ni alteración marcada del estado general. La paciente había sido tratada con diversos antibióticos pero, a pesar de ello y del desbridamiento quirúrgico de la herida que se realizó en dos ocasiones, ésta había recidivado. En la exploración se observaban restos cicatriciales sobre una zona alargada, eritematosa, caliente e indurada, distinguiéndose en la zona proximal un orificio de trayecto fistuloso. No se constataron otros hallazgos ni antecedentes patológicos de interés. El análisis de sangre que la paciente aportaba mostraba una leucocitosis de 12.600 cel/mm³ con ligera linfocitosis (49%). Se tomaron muestras del escaso material purulento de color “amarillo claro” que salía por el orificio fistuloso tras aplicar presión sobre el área y fueron remitidas al laboratorio de Microbiología, sembrándose en diversos medios de cultivo. A los cuatro días, crecieron en el medio de Löwestein-Jensen unas colonias cuyo estudio constituye el objeto de este control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** de la micobacteria/s implicada/s en este cuadro clínico y, si procedía, el estudio de sensibilidad, así como que formularan los **comentarios** que se consideraran oportunos. La cepa fue identificada como *M. chelonae* por el laboratorio que actuó de referencia mediante pruebas bioquímicas y métodos moleculares (hibridación inversa y secuenciación del gen 16s rRNA).

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

Se envió la cepa a un total de 94 participantes, de los que 71 remitieron hoja de respuesta con resultados valorables (identificación de la cepa), lo que supone un porcentaje de participación real del 75,5%, ligeramente superior a los últimos controles. Dado el nivel de dificultad, se alcanzó un buen porcentaje de aciertos, si tenemos en cuenta que el 77,4% de los participantes aportó una identificación correcta. Desde el Programa de Control de Calidad SEIMC, se consideraron aceptables las siguientes identificaciones: *M. chelonae*, *M. chelonae* (complejo) y *M. chelonae/abscesus/inmunogenicum*. Todos los datos quedan reflejados en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación de la cepa.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium chelonae</i>	35	49,3
<i>Mycobacterium chelonae</i> (grupo II, IV)	2	2,8
<i>Mycobacterium chelonae</i> complex	8	11,3
<i>Mycobacterium chelonae</i> subtipo 1	3	4,2
<i>Mycobacterium chelonae/abscesus</i>	6	8,4
<i>Mycobacterium chelonae/inmunogenicum</i>	1	1,4
<i>Mycobacterium chelonae</i> subespecie <i>abscesus</i>	1	1,4
<i>Mycobacterium abscesus</i>	8	11,3
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1	1,4
Género <i>Mycobacterium</i>	3	4,2
Micobacteria de crecimiento rápido	1	1,4
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i>)	2	2,8

Por lo que respecta a los métodos utilizados para la identificación, sólo siete de los 71 centros que enviaron hoja de respuesta (9,9%) no aportaron información al respecto. El método mayoritario fue la bioquímica convencional, usada como única técnica o en combinación con diversos métodos moleculares. En segundo lugar, cabe destacar las pruebas de hibridación inversa, que fueron empleadas por un porcentaje considerable de centros, solas o junto a otros métodos moleculares o pruebas bioquímicas (tabla 2).

Tabla 2. Métodos utilizados para la identificación.

Método Identificación	Número	%
Pruebas bioquímicas	19	26,8
Hibridación inversa	18	25,4
Pruebas bioquímicas + características morfo-culturales	4	5,6
Hibridación inversa + PCR-RFLP	3	4,2
PCR-RFLP	3	4,2
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	2	2,8
Bioquímica + hibridación inversa + PCR-RFLP	2	2,8
Pruebas bioquímicas + secuenciación	2	2,8
Secuenciación	2	2,8
Sonda	2	2,8
Métodos moleculares	2	2,8
Miscelánea de métodos	5	7,0
No informa	7	9,9
Total	71	100,0

Como ya comentamos en otros controles, parece existir una correlación entre el método empleado y el nivel de identificación de la cepa, de modo que los centros que llegan al diagnóstico más preciso emplean técnicas de biología molecular (PCR-RFLP, hibridación, secuenciación), muchas veces combinados con pruebas bioquímicas convencionales.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, destaca en primer lugar el importante número de centros (42,3%) que no aportó marca establecida, puesto que emplearon técnicas manuales. Como se puede observar en la tabla 3, de los 25 centros que realizan una técnica de hibridación inversa, 16 emplean el equipo comercial INNO-LiPA® (Innogenetics), siete el de Genotype *Mycobacterium*, y dos centros utilizan ambos equipos. Sólo uno de los centros que empleó este método no informa de la marca comercial empleada. El resto de los datos quedan reflejados en la tabla 3.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Equipo comercial	Número	%
Manual	30	42,3
INNO-LiPA® Innogenetics	16	22,5
No informa	14	19,7
Genotype <i>Mycobacterium</i>	7	9,9
INNO-LiPA® Innogenetics + Genotype <i>Mycobacterium</i>	2	2,8
Accuprobe/Gen-Probe® bioMérieux	1	1,4
Hain (Soria Melguizo)	1	1,4
Total	71	100,0

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS FÁRMACOS ANTIMICOBACTERIANOS

El estudio de sensibilidad fue realizado por 28 (39,4%) de los 71 centros que enviaron hoja de respuesta con resultado evaluable. De ellos, dos participantes (7,1%) no aportaron datos sobre el método empleado. Del resto, cabe destacar que el 39,3% de los centros emplearon E-Test® y el 28,6% un método de disco-placa. Todos los datos se reflejan en la tabla 4.

Tabla 4. Métodos empleados en la sensibilidad.

Método	Número	%
E-Test®	11	39,3
Disco-Placa	8	28,6
No informa	2	7,1
E-Test® + disco-placa	2	7,1
Dilución en medio líquido	1	3,6
Dilución en medio líquido + microdilución	1	3,6
Proporciones	1	3,6
E-Test® + dilución en medio líquido	1	3,6
Dilución en medio líquido + disco-placa	1	3,6
Total	28	100,0

En la tabla 5 se muestran los resultados de sensibilidad aportados por el laboratorio que actuó como centro de referencia sobre siete de los fármacos para los que existen criterios interpretativos según las normas del CLSI. Este organismo indica que se debería realizar estudio de sensibilidad para cualquier micobacteria de crecimiento rápido que sea considerada clínicamente significativa. Recomienda, además, que se deberían estudiar los siguientes fármacos: amikacina, cefoxitina, ciprofloxacino, claritromicina, doxiciclina, imipenem, sulfametoxazol (o trimetoprim-sulfametoxazol), tobramicina y linezolid.

Tabla 5. Sensibilidad según el laboratorio de referencia.

Antibiótico	Interpretación	CMI (µg/mL)
Amikacina	S	1
Cefoxitina	R	>256
Ciprofloxacino	I	2
Claritromicina	S	0,023
Doxiciclina	R	>256
Imipenem	R	>16
Cotrimoxazol	S	1,25

Entre los datos aportados por los participantes existe cierta dispersión en cuanto a los antibióticos ensayados; pese a ello, desde el Control de Calidad SEIMC se ha considerado oportuno comentar sólo los resultados obtenidos con respecto a los antibióticos recomendados por CLSI y que fueron informados por el laboratorio de referencia. Como se puede observar en la tabla 6, existe una notable coincidencia entre los laboratorios participantes y el centro de referencia, en cuanto a la sensibilidad de la cepa frente a amikacina, cefoxitina claritromicina y doxiciclina. En el caso del imipenem, aunque en menor porcentaje, también la mayoría de los laboratorios coinciden con la información

aportada por el centro de referencia, pero según el CLSI, en el caso de esta cepa, no se debería informar la CMI frente al imipenem. En el caso del ciprofloxacino existe mayor diversidad de resultados, de modo que la mayoría de los centros informan la cepa como sensible con CMI =1 µg/mL. Finalmente, en el caso del cotrimoxazol, un 75% de los centros aportó un resultado discrepante con el centro de referencia; de estos nueve centros, cinco emplearon un método de disco-placa y cuatro centros hicieron un E-test®. Los tres participantes, cuya interpretación coincidió con el laboratorio de referencia realizaron una prueba E-test®.

Tabla 6. Distribución de los resultados de sensibilidad.

Antibiótico	Sensible	Resistente	Intermedio	Total
Amikacina	14	3	1	18
Cefoxitina	–	13	–	13
Ciprofloxacino	12	6	1	19
Claritromicina	17	1	–	18
Doxiciclina	–	4	–	4
Imipenem	3	7	1 ^a	11
Cotrimoxazol	3	9	–	12
Linezolid	5	–	–	5

^aNo interpreta

USO DE LABORATORIO EXTERNO

De los 71 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 57 (80,3%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, nueve centros (12,7%) indicaron que sí lo habían utilizado, seis de ellos (8,5%) de forma parcial. Cinco participantes (7,0%) no aportaron información al respecto.