

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-1/08)

En el presente control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium kansasii* en medio de Löwestein-Jensen. Había sido aislada de un varón de 45 años de edad, fumador de 30 cigarrillos/día, con antecedentes de tuberculosis pulmonar en la adolescencia, que fue ingresado tras acudir al servicio de urgencias por presentar, desde hacía un mes, un cuadro clínico caracterizado por astenia, febrícula vespertina, tos productiva, disnea ante medianos esfuerzos, disfonía y pérdida de 3 kg de peso. En la exploración se palpaba una adenopatía supraclavicular izquierda y adenopatías axilares no dolorosas, y en la auscultación pulmonar, roncus y sibilantes aislados. La radiografía de tórax mostraba un infiltrado cavitado en el lóbulo superior izquierdo. La biopsia de la adenopatía supraclavicular mostró metástasis de carcinoma epidermoide; además, se enviaron tres muestras de esputo a Microbiología para estudio bacteriológico, micológico y de micobacterias. A pesar de que la baciloscopia resultó negativa, a los 12 días de incubación en medio líquido se obtuvo el crecimiento de la micobacteria que era el objeto de este control.

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

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

Se envió la cepa a un total de 106 participantes, de los que 90 remitieron hoja de respuesta con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación real del 84,9%, superior a los últimos controles. Como puede observarse en la tabla 1, todos los laboratorios encuadraron la cepa dentro del grupo de las micobacterias, y se alcanzó un porcentaje de aciertos aceptable si tenemos en cuenta que el 70,0% de los participantes realizó una correcta identificación de especie, lo que fue considerado suficiente por parte del Programa de Control de Calidad SEIMC, así como la identificación óptima del genotipo, que fue alcanzada por el 21,1% de los centros. Un 4,4% de los centros tan sólo realizó una aproximación genérica como micobacteria no tuberculosa, o no cromógena de crecimiento lento. El resto de las identificaciones quedan reflejadas en la tabla 1.

**Tabla 1. Resultados de la identificación de la cepa.**

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium kansasii</i>	63	70,0
<i>Mycobacterium kansasii</i> tipo I	19	21,1
Género <i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i> )	3	3,3
Género <i>Mycobacterium</i>	1	1,1
Micobacteria no cromógena de crecimiento lento	1	1,1
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	1	1,1
<i>Mycobacterium flavescens</i>	1	1,1
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1	1,1
Total	90	100,0

Por lo que respecta a los métodos utilizados para la identificación, de los 90 centros que enviaron hoja de respuesta, fueron ocho los participantes (8,9%) que no aportaron información al respecto, de los cuales seis recurrieron a un laboratorio externo de referencia.

**Tabla 2. Métodos utilizados para la identificación.**

Método Identificación	Número	%
Hibridación inversa	36	40,0
Sonda	21	23,3
Pruebas bioquímicas	6	6,7
Pruebas bioquímicas + sonda	4	4,5
Secuenciación	4	4,5
Pruebas bioquímicas + características morfo-culturales	3	3,3
Pruebas bioquímicas + métodos moleculares	1	1,1
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	1	1,1
Genotipado	1	1,1
Sonda + hibridación inversa	1	1,1
Bioquímica + hibridación inversa + PCR-RFLP <sup>a</sup>	1	1,1
Características morfo-culturales	1	1,1
Hibridación inversa + PCR-RFLP <sup>a</sup>	1	1,1
PCR <sup>a</sup>	1	1,1
No informa	8	8,9
Total	90	100,0

<sup>a</sup>PCR: reacción en cadena de la polimerasa; RFLP: *restriction fragment length polymorphism*.

Las técnicas empleadas mayoritariamente por los participantes fueron los métodos moleculares, destacando en primer lugar las técnicas de hibridación inversa, usadas en solitario o en combinación con pruebas bioquímicas clásicas u otros métodos moleculares por 40 centros (44,4%). En segundo lugar, destacan las sondas comerciales, que fueron empleadas por 26 centros (28,9%), solas o junto a otros métodos moleculares o pruebas bioquímicas. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

Si analizamos los resultados, parece existir una correlación entre la mayor utilización de métodos moleculares y una mejor y más exacta identificación de la cepa, de modo que los centros que llegan al diagnóstico más preciso (especie, genotipo), emplean técnicas de biología molecular (PCR-RFLP, hibridación, secuenciación), a veces junto a pruebas bioquímicas convencionales.

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 para ello bien el equipo comercial INNO-LiPA® (Innogenetics), bien el de Genotype *Mycobacterium*, de forma equitativa (18,9%) y mostrando en general, un excelente índice de acierto en la identificación. Fueron 15 (16,7%) los centros que emplearon una sonda de ácidos nucleicos la identificación e informaron la marca Accu-probe/Gen-probe® de bioMérieux, también con excelentes resultados en la identificación de especie.

Cabe destacar, el considerable número de participantes que no aportan información sobre el equipo comercial usado (28,9%) lo que se explica, en parte, por el uso de un laboratorio externo, y por también por los que emplean métodos moleculares no comerciales.

**Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.**

Equipo comercial	Número	%
No informa	26	28,9
INNO-LiPA® Innogenetics	17	18,9
Genotype <i>Mycobacterium</i>	17	18,9
Accuprobe/Gen-Probe® bioMérieux	15	16,7
Manual	14	15,4
Gen Probe® bioMérieux + INNO-LiPA®Innogenetics	1	1,1
Total	90	100,0

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS FÁRMACOS ANTIMICOBACTERIANOS

El estudio de sensibilidad fue realizado por 37 (41,1%) de los 90 centros que enviaron hoja de respuesta con resultado evaluable. La técnica empleada mayoritariamente fue un método de dilución en medio líquido, utilizada por el 59,4% de los participantes, tratándose en todos los casos de un sistema automatizado. El 13,5% de los centros empleó el método de las proporciones, uno de ellos combinándolo con el E-test®, que fue utilizado como método único en el 8,1% de los casos. Finalmente, seis participantes (16,2%) no aportaron datos sobre el método empleado. Todos los datos quedan reflejados en la tabla 4.

**Tabla 4. Métodos empleados en la sensibilidad.**

Método	Número	%
Dilución en medio líquido	19	51,3
No informa	6	16,2
Proporciones	4	10,8
E-Test®	3	8,1
Dilución en medio líquido + E-Test®	2	5,4
Difusión en Middlebrook 7H11	1	2,7
Dilución en medio líquido + difusión	1	2,7
E-Test® + proporciones	1	2,7
Total	37	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, destacan, en primer lugar, y como cabría esperar del análisis de métodos, los sistemas automatizados de Becton-Dickinson, en concreto el Bactec®MGIT 960, que fue usado por el 27,0% de los participantes. En segundo lugar, existe un considerable porcentaje de centros (18,9%) que no aportó información acerca de la marca comercial, donde incluiríamos algunos de los participantes que remitieron la cepa a un laboratorio externo de referencia para realizar el estudio de sensibilidad. El resto de equipos empleados quedan reflejados en la tabla 5.

Por lo que respecta a los antibióticos estudiados, se han tenido en cuenta las directrices aportadas por el *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI) para esta micobacteria, donde se recomienda que, en caso de infección por *M. kansasii*, se realice inicialmente tan sólo el estudio de sensibilidad de la cepa frente a la rifampicina, ya que los casos de fracaso terapéutico suelen asociarse a las resistencia a este fármaco. Por ello, se ha decidido aportar los datos derivados del estudio de sensibilidad realizado por los distintos participantes con respecto a la rifampicina. De los 37 centros que realizan estudio de sensibilidad, son 36 los que estudian este antibiótico y, de ellos, 35 participantes, es decir la gran mayoría, aportan un resultado (sensible) coincidente con el del laboratorio de referencia. Tan sólo un participante aporta un resultado discordante.

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

Marca	Número	%
Bactec® MGIT 960 Becton-Dickinson	6	16,2
Bactec® 460 TB Becton-Dickinson	5	13,5
Bactec® MGIT 960 + AB Biodisk	4	10,8
AB Biodisk	3	8,1
Manual	3	8,1
ESP (Soria Melguizo)	3	8,1
Bact Alert	2	5,4
Bactec® sin especificar	2	5,4
Izasa	1	2,7
AB Biodisk + Bact Alert	1	2,7
No informa	7	18,9
Total	37	100,0

### USO DE LABORATORIO EXTERNO

De los 90 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 68 (75,5%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 18 centros (20,0%) indicaron que sí lo habían utilizado, seis de ellos (6,7%) de forma parcial y cuatro participantes (4,4%) no aportaron información al respecto. Así, de manera similar a lo que ha ocurrido en anteriores 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 necesarios para realizar estudio de micobacterias no tuberculosas.