

CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-2/09)

En este control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium abscessus*, en medio de Löwenstein-Jensen. Había sido aislada de una mujer de 55 años de edad, jardinera de profesión, que presentó una lesión abscesificada en el dedo índice de varias semanas de evolución. Comenzó como una pápula eritematosa sobre la herida superficial que la paciente se había hecho con un utensilio. A pesar de una asepsia adecuada, la lesión no mejoró, evolucionando hasta la ulceración y la formación de un pequeño absceso, con edema local y presencia de adenopatías regionales. Se tomaron muestras del exudado purulento de la lesión, que fueron remitidas al laboratorio de Microbiología para tinción y cultivo de micobacterias. Aunque la tinción de Ziehl Neelsen fue negativa, a los tres días, a partir del medio líquido, se obtuvo crecimiento de la micobacteria que constituyó el 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 que formularan los **comentarios y sugerencias** que se considerasen oportunos. La cepa fue identificada, mediante métodos moleculares (hibridación y secuenciación), como *M. abscessus* por el laboratorio que actuó de referencia.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 105 participantes, de los que 82 remitieron la hoja de respuesta con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 78,1%, similar al del último control, que fue del 76,2%. El Programa de Control de Calidad aceptó como óptima la identificación de especie *M. abscessus*, y como aceptable la de *Mycobacterium chelonae/abscessus*, por la elevada similitud genética que presenta *M. chelonae* con *M. abscessus*. De hecho, algunos sistemas comerciales no las diferencian. Como puede observarse en la tabla 1, la mayoría de los laboratorios (el 78,1%) identificaron correctamente la especie. Nueve laboratorios (11,0%) informaron *M. chelonae/abscessus*, con lo que el porcentaje de acierto total fue del 89,0%, superior al del último control (del 75,0%).

Tabla 1. Resultados de la identificación de la cepa.

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium abscessus</i>	64	78,1
<i>Mycobacterium chelonae/abscessus</i>	9	11,0
<i>Mycobacterium chelonae</i>	5	6,1
<i>Mycobacterium chelonae</i> complex	1	1,2
<i>Mycobacterium chelonae</i> grupo III	1	1,2
Micobacteria fotocromógena de crecimiento rápido	1	1,2
Micobacteria de crecimiento rápido	1	1,2
Total	82	100,0

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 82 centros que enviaron la hoja de respuesta, 2 participantes (2,4%) no aportaron información al respecto, recurriendo a un laboratorio externo de referencia. Las técnicas empleadas mayoritariamente fueron las moleculares, en especial las técnicas de hibridación inversa, que se usaron, bien en solitario o bien combinadas con otro método (pruebas bioquímicas, características morfo-culturales o PCR-RFLP), en 58 centros participantes (70,7%). En segundo lugar destacan las pruebas bioquímicas clásicas que, en esta ocasión, sólo fueron utilizadas en 13 centros (el 15,8%), solas o junto a métodos moleculares (tabla 2).

Tabla 2. Métodos utilizados para la identificación.

Método	Número	%
Hibridación inversa	48	58,6
Pruebas bioquímicas	5	6,2
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	4	4,9
PCR	4	4,9
Secuenciación	4	4,9
Hibridación inversa + PCR-RFLP ^a	3	3,7
Hibridación inversa + Secuenciación	2	2,4
Pruebas bioquímicas + características morfo-culturales	2	2,4
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,2
Características morfo-culturales	1	1,2
Pruebas bioquímicas + métodos moleculares	1	1,2
Pruebas bioquímicas + secuenciación	1	1,2
Secuenciación + Características morfo-culturales	1	1,2
PCR-RFLP ^a	1	1,2
Velocidad de crecimiento + Fotosensibilidad	1	1,2
Ziehl Neelsen + Características morfo-culturales	1	1,2
No informa	2	2,4
Total	82	100,0

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

Como ya sucedía en los últimos controles de micobacterias, al analizar los resultados, parece existir una asociación entre la utilización de pruebas moleculares y una mejor y más exacta identificación de la cepa. Así, de los 64 centros que informaron *M. abscessus*, 60 realizaron un método molecular, solo o asociado a pruebas bioquímicas (principalmente la hibridación inversa, informada por 52 participantes), mientras que sólo 5 realizaron exclusivamente pruebas bioquímicas y 2 no informaron del método empleado. La marca comercial más frecuentemente utilizada (tabla 3) fue el sistema de hibridación Genotype® *Mycobacterium* de Hain (el 45,1%), seguido de INNO-LiPA® de Innogenetics (19,5%). De los 37 participantes que utilizaron el Genotype® *Mycobacterium*, 36 (el 97,3%) identificaron óptimamente la cepa problema (*M. abscessus*) y el centro restante informó *M. chelonae*. Sin embargo, de los 16 usuarios de INNO-LiPA®, solamente 11 (68,8%) informaron *M. abscessus*, mientras que otros 3 (18,8%) la identificaron como *M. chelonae/abscessus*, otro centro informó complejo *M. chelonae* y el centro restante *M. chelonae* grupo III. Cabe destacar, nuevamente, el considerable número de participantes que no aportaron información sobre el equipo comercial usado (el 15,9%), probablemente debido a que muchos de ellos remitieron la cepa a su laboratorio de referencia.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Genotype <i>Mycobacterium</i>	37	45,1	97,3
INNO-LiPA (Innogenetics)	16	19,5	68,8
Manual ^a	16	19,5	37,5
No informa	13	15,9	84,6
Total	82	100,0	78,1

^aSe incluyen tanto las pruebas bioquímicas como la secuenciación.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS FÁRMACOS ANTIMICOBACTERIANOS

El estudio de sensibilidad fue realizado por 43 (52,4%) de los 82 centros que enviaron la hoja de respuesta (tabla 4). La técnica mayoritaria fue el E-test®, realizado por 27 centros (el 62,8% de las respuestas con antibiograma, 48,9% de ellos de forma aislada). Otros métodos empleados fueron la microdilución (en el 18,6% de los centros, siendo utilizada en el 14,0% como método único), el disco-placa (en el 11,6% de los centros, el 2,3% como método único), y la dilución en medio líquido (6,9% de los participantes, en todos los casos combinada con otros métodos).

Tabla 4. Métodos empleados en la sensibilidad.

Método	Número	%
E-test®	21	48,9
Microdilución	6	14,0
Disco-placa + E-test®	4	9,3
Dilución en medio líquido	2	4,6
Dilución en medio líquido + microdilución	1	2,3
Dilución en medio líquido + E-test®	1	2,3
E-test® + microdilución	1	2,3
Disco-placa	1	2,3
CMI	1	2,3
No informa	5	11,7
Total	43	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, destaca el Sensititre®, que fue usado por 5 centros (el 11,6% de los participantes que realizaron antibiograma). El sistema automatizado Bactec® MGIT 960 fue usado por 2 centros (4,6% de los centros que hicieron antibiograma), y el Bactec® 460 TB fue usado por otro centro. Hubo un considerable porcentaje de laboratorios (7 centros, 16,3%) que no aportó información de la marca comercial, en general los participantes que remitieron la cepa a un laboratorio externo de referencia (tabla 5).

Tabla 5. Marcas empleadas en el estudio de sensibilidad.

Marca	Número	%
E-test®	21	55,3
Sensititre	5	13,2
Bactec MGIT 960 (Becton-Dickinson)	2	5,3
Bactec 460 TB (Becton-Dickinson)	1	2,6
Manual ^a	1	2,6
Wider	1	2,6
No informa ^b	7	18,4
Total	38	100,0

^aIncluye microdilución (1 laboratorio).

^bCinco no mencionaron tampoco la metodología empleada.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De los 82 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 63 (76,8%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 11 centros indicaron que sí lo habían utilizado (13,4%), y 6 centros (7,3%) lo utilizaron parcialmente. Hubo 2 participantes (2,5%) 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 necesarios para realizar el estudio de micobacterias no tuberculosas, y que esta capacitación va en aumento, ligada a la progresiva implantación de los métodos moleculares comerciales.

COMENTARIOS

Algunos participantes (10 centros) recomendaron tratamiento con claritromicina, además de desbridamiento quirúrgico; además, en los casos graves, asociarían amikacina. Cuatro centros especificaron que convendría enviar la cepa a un laboratorio de referencia para el estudio de sensibilidad. Otros 4 centros señalaron la similitud que existe entre *M. abscessus* y *Mycobacterium immunogenicum*, que se podrían diferenciar sobre la base del crecimiento de la primera de estas especies en un medio con un 5% de cloruro sódico. Por último, 3 centros indicaron que el antibiograma en esta especie de micobacterias no está estandarizado.