

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-2/10)

En este control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium intracellulare*, en medio de Lowenstein-Jensen. Había sido aislada en una mujer de 68 años de edad, fumadora de 2 paquetes de tabaco/día y diagnosticada de EPOC desde hacía 5 años. Acudió a su médico de familia, por presentar un síndrome constitucional de dos meses de evolución con febrícula vespertina y expectoración moderada, que no había mejorado a pesar de cumplimentar dos fases de tratamiento antibiótico. En la última semana había sufrido un aumento de su disnea habitual, así como un episodio de expectoración hemoptoica. En la radiografía de tórax se observaron bronquiectasias bibasales. Se recogieron tres muestras de esputo, que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para estudio micobacteriológico. Las baciloscopias resultaron negativas, pero a los 15 días de incubación se aisló, a partir del medio de cultivo líquido de las tres muestras, la micobacteria que es objeto de este control.

Se solicitó a los centros participantes la **identificación de la micobacteria** implicada en este caso clínico y el estudio de sensibilidad, si procedía, así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que se considerasen oportunos. La cepa fue identificada, mediante métodos moleculares (hibridación inversa y secuenciación), como *M. intracellulare* tipo 1 por el laboratorio que actuó como centro de referencia.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 109 participantes, de los que 87 remitieron hoja de respuesta. Así, el porcentaje de participación real fue del 79,8%, inferior al del último control (87,2%) aunque similar al de los dos controles de micobacterias del 2009 (78,1% y 76,2%). El Programa de Control de Calidad aceptó como óptima la identificación de especie *M. intracellulare*, y como aceptable la de complejo *Mycobacterium avium*. La mayoría de los centros (el 81,7%) informaron correctamente la especie *M. intracellulare* (cuatro de los cuales especificaron *M. intracellulare* tipo 1). Otros diez laboratorios (11,5%) informaron *M. avium* complex, con lo que el porcentaje global de acierto fue del 93,1%.

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

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	71	81,7
<i>Mycobacterium avium</i> complex	10	11,5
<i>Mycobacterium avium</i>	2	2,3
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i> )	2	2,3
Género <i>Mycobacterium</i>	1	1,1
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1	1,1
Total	87	100,0

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación, de los 87 laboratorios que enviaron la hoja de respuesta con resultados valorables, 4 participantes (4,6%) no aportaron información al respecto. En el resto, todos los centros, excepto dos, emplearon pruebas moleculares, en especial las técnicas de hibridación inversa, que fueron usadas, en solitario o combinadas con otro método (sondas o pruebas bioquímicas), al menos por 58 centros participantes (66,7%). Fueron solamente 5 (5,7%) los laboratorios que utilizaron pruebas bioquímicas, y de ellos, cuatro las emplearon como técnicas complementarias a diferentes métodos moleculares (tabla 2).

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

Método	Número	%
Hibridación inversa	48	55,2
Sonda	14	16,1
Sonda + hibridación inversa	6	6,9
Secuenciación	4	4,6
Pruebas bioquímicas + métodos moleculares	2	2,3
Hibridación inversa + PCR-RFLP <sup>a</sup>	2	2,3
Características morfo-culturales + hibridación inversa	1	1,2
Características morfo-culturales + métodos moleculares	1	1,2
Pruebas bioquímicas	1	1,2
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	1	1,2
Pruebas bioquímicas + sonda	1	1,1
Sonda + secuenciación	1	1,1
PCR	1	1,1
Inmunocromatografía	1	1,1
No informa	4	4,6
Total	87	100,0

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

Todos los centros que identificaron correctamente la cepa como *M. intracellulare* (n=71) realizaron algún método molecular, solo o asociado a pruebas bioquímicas. La técnica mayoritariamente empleada por estos 71 laboratorios fue la hibridación inversa, informada por 57 participantes (80,3%); respecto a las pruebas bioquímicas, fueron usadas, siempre combinadas con métodos moleculares, por 3 de los 71 participantes que informaron esta especie (4,2%).

La marca comercial más utilizada por el conjunto de los participantes (tabla 3) fue el sistema de hibridación inversa GenoType® *Mycobacterium* CM, de Hain (el 43,5%), seguido de las sondas AccuProbe® Gen-Probe, bioMérieux (el 18,5%) y del INNO-LiPA® de Innogenetics (15,2%). Los 40 participantes que utilizaron el GenoType® *Mycobacterium* CM identificaron correctamente la cepa problema (*M. intracellulare*). Respecto al INNO-LiPA®, todos los 14 participantes que realizaron esta técnica informaron correctamente la especie. Cabe destacar, nuevamente, el considerable número de centros que no aportó información sobre el equipo comercial usado (el 16,3%), 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
GenoType <i>Mycobacterium</i> CM (Hain)	40	43,5
AccuProbe (GenProbe) (bioMérieux)	17	18,5
Innolipa (Innogenetics)	14	15,2
Becton-Dickinson	1	1,1
Manual <sup>a</sup>	5	5,4
No informa	15	16,3
Total	92	100,0

<sup>a</sup>Se incluyen: pruebas bioquímicas y secuenciación.

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

El estudio de sensibilidad fue realizado solamente por 25 (28,7%) de los 87 centros que enviaron hoja de respuesta con resultado evaluable (tabla 4). La técnica mayoritaria fue la dilución en medio líquido, realizada por 12 centros (el 48,0% de las respuestas con antibiograma, 40,0% de forma aislada). Otros métodos empleados fueron el E-test® (28,0% de los centros, 20,0% como método único) y la microdilución (20,0% de los participantes).

**Tabla 4. Métodos empleados en el estudio de sensibilidad.**

Método	Número	%
Dilución en medio líquido	10	40,0
E-test®	5	20,0
Microdilución	5	20,0
Dilución en medio líquido + E-test®	2	8,0
No informa	3	12,0
Total	25	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, destaca el AB Biodisk® (actualmente bioMérieux) para las tiras de E-test®, usadas por siete centros (26,0%). Cinco centros utilizaron el sistema automatizado Bactec® MGIT 960, de Becton-Dickinson (el 18,5% de los participantes que realizaron antibiograma). De los cinco centros que realizaron microdilución, tres emplearon el sistema comercial Sensititre® (11,1%), mientras que dos las hicieron de forma manual (7,4%). Dos laboratorios realizaron dilución en caldo utilizando el sistema VersaTrek® (bioMérieux). Dos centros realizaron dos técnicas de sensibilidad al mismo tiempo (dilución en medio líquido junto con el E-test®). Hubo un considerable porcentaje de laboratorios (29,6%) que no aportó información acerca de la marca comercial, entre ellos algunos de los participantes que remitieron la cepa a un centro externo de referencia para realizar el estudio de sensibilidad. El resto de equipos informados quedan reflejados en la tabla 5.

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

Marca	Número	%
AB Biodisk® (bioMérieux)	7	26,0
Bactec® MGIT 960 (Becton-Dickinson)	5	18,5
Sensititre	3	11,1
VersaTrek® (bioMérieux)	2	7,4
Manual <sup>a</sup>	2	7,4
No informa	8	29,6
Total	27	100,0

<sup>a</sup>Incluye microdilución.

En la tabla 6 se muestra el resultado de sensibilidad aportado por el laboratorio que actuó como centro de referencia para la claritromicina, único de los fármacos para los que existen criterios interpretativos según el CLSI, *M. intracellulare* presenta resistencia natural a la isoniazida y a la pirazinamida.

**Tabla 6. Resultados de sensibilidad aportados por el laboratorio de referencia.**

Antimicrobiano	Concentración crítica (µg/ml)	Interpretación
Claritromicina	0,125	S

Como se puede observar en la tabla 7, los resultados obtenidos frente a la azitromicina y a la claritromicina muestran unos porcentajes de concordancia con el centro de referencia muy elevados.

**Tabla 7. Distribución de los resultados de sensibilidad.**

Antimicrobiano	Sensible	Resistente	Total	Concordancia (%)
Claritromicina	17	2	19	89,5
Azitromicina	3	-	3	100,0

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De los 87 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 73 (83,9%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 10 centros indicaron que sí lo habían usado (11,5%), y 4 (4,6%) lo emplearon parcialmente. 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, y que esta capacitación va en aumento, ligada a la progresiva implantación de los métodos moleculares comerciales, utilizados en este control por la práctica totalidad de los participantes.

## COMENTARIOS

Algunos participantes (7 centros) indicaron que el tratamiento se debe hacer con una combinación antibiótica que incluya la claritromicina o la azitromicina; dos de estos laboratorios mencionan que el antibiograma en esta especie sólo está indicado si existe el antecedente de un tratamiento previo con macrólidos. Otros tres centros mencionan que el antibiograma en esta especie no está estandarizado. Por último, tres centros señalan que únicamente realizan antibiograma para *Mycobacterium tuberculosis*.