

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-2/11)

En este control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium tuberculosis*, en medio de Lowenstein-Jensen. Había sido aislada en un paciente de 78 años de edad, diagnosticado de EPOC moderado, que acudió a la consulta de Neumología por presentar, desde hacía un mes y medio, un cuadro de tos escasamente productiva, aumento de su disnea habitual y febrícula vespertina. El cuadro no había cedido a pesar de repetidos tratamientos con diferentes antibióticos. En la radiografía de tórax se observaba un infiltrado en el lóbulo pulmonar derecho con adenopatías hiliares. En la revisión del año anterior, se le habían realizado exploraciones radiológicas en las que no se detectaron hallazgos patológicos. Se enviaron tres esputos seriados, que no aportaron resultados significativos, sin embargo el paciente seguía con la sintomatología, por lo que, para conocer la etiología del cuadro actual, se realizó una broncoscopia y se remitió el broncoaspirado para estudio bacteriológico convencional y de micobacterias. La baciloscopia fue positiva aunque con un recuento bajo; en el cultivo bacteriológico creció flora bacteriana habitual y, a los 9 días, de incubación en medio líquido automatizado, creció la micobacteria que es 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 inmunocromatografía y métodos moleculares (hibridación inversa y secuenciación), como *M. tuberculosis* por el laboratorio que actuó de referencia.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 112 participantes, de los que 99 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 88,4%, similar al del último control (que fue del 84,8%). Desde el Programa de Control de Calidad SEIMC, se consideró como óptima la identificación de especie *M. tuberculosis*, y como aceptable la del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Así, la mitad de los centros (el 49,5%) informaron especie *M. tuberculosis*, mientras que la otra mitad (el 50,5%) informaron complejo *M. tuberculosis*, con lo que el porcentaje de acierto global fue del 100%. Todos los datos quedan reflejados en la tabla 1.

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

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	49	49,5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex	50	50,5
Total	99	100,0

Respecto a los métodos utilizados para la identificación, de los 99 laboratorios que enviaron la hoja de respuesta, sólo 2 participantes (2,1%) no aportaron información al respecto. En el resto, todos los centros realizaron una prueba molecular y/o de inmunocromatografía (tabla 2).

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

Método	Número	%
Hibridación inversa	37	37,4
Sonda	18	18,2
Inmunocromatografía	15	15,2
PCR a tiempo real (le sumo la fila de PCR)	5	5,1
Hibridación inversa + pruebas bioquímicas/características morfoculturales	3	3,0
Hibridación inversa + inmunocromatografía	2	2,0
Hibridación inversa + <i>spoligotyping</i>	2	2,0
Hibridación inversa + inmunocromatografía + <i>spoligotyping</i>	1	1,0
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	1	1,0
Hibridación inversa + resistencia tiosemicarbazona	1	1,0
Hibridación inversa + sonda	1	1,0
Inmunocromatografía + métodos fenotípicos	1	1,0
Inmunocromatografía + sonda + hibridación inversa/PCR	2	2,0
Inmunocromatografía + técnicas moleculares /sonda	2	2,0
Métodos moleculares	1	1,0
Oligocromatografía	1	1,0
Pruebas bioquímicas + métodos moleculares (sonda..)	2	2,0
Secuenciación	1	1,0
Sonda + PCR a tiempo real	1	1,0
No informa	2	2,1
Total	99	100,0

Las técnicas de hibridación inversa fueron usadas, en solitario o en combinación con otro método (pruebas bioquímicas, inmunocromatografía ó sondas), por 49 centros participantes (49,5%). Las sondas de nucleótidos frente al complejo *M. tuberculosis* fueron informadas por 24 centros (24,3%), en ocasiones asociadas a otras técnicas. Destaca en este control el considerable número de laboratorios que realizan una técnica inmunocromatográfica (22 participantes,

el 22,2% de los mismos). Fueron 5 (5,0%) los laboratorios que informaron pruebas bioquímicas, siempre junto con métodos moleculares.

La marca comercial más utilizada por el conjunto de los participantes (tabla 3) fue el sistema de hibridación inversa Genotype® *Mycobacterium* de Hain (el 35,6% del conjunto de las técnicas de identificación informadas), seguido de las sondas AccuProbe® Gen-Probe de bioMérieux (16,1%), de la inmunocromatografía de Becton-Dickinson (6,0%), de la prueba de hibridación inversa INNO-LiPA® de Innogenetics (5,1%), y del sistema de PCR en tiempo real GenXpert® de Cepheid (4,2%). Cabe destacar, nuevamente, el considerable número de participantes que no aportaron información sobre el equipo comercial usado (el 19,5%), 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> (Hain)	42	35,6
AccuProbe (GenProbe) (bioMérieux)	19	16,1
Becton-Dickinson	7	6,0
INNOLiPA (Innogenetics)	6	5,1
GenXpert (Cepheid)	5	4,2
Standard Diagnostics	2	1,7
Alere	1	0,8
Speed-Oligo (Vircell)	1	0,8
Manual <sup>a</sup>	12	10,2
No informa	23	19,5
Total	118	100,0

<sup>a</sup>Se incluyen: pruebas bioquímicas, PCR caseras, *spoligotyping* y secuenciación.

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

El estudio de sensibilidad fue realizado por 79 (79,8%) de los 99 centros que enviaron hoja de respuesta con resultado evaluable (tabla 4). La técnica mayoritaria fue la dilución en medio líquido, empleada por 67 de los 79 centros que realizaron estudio de sensibilidad (84,8%). Otros métodos empleados fueron el E-test® (6,3%) y el método de las proporciones (5,1%).

Por otra parte, 14 centros realizaron detección de algunos de los genes de resistencia a los antituberculosos, once de ellos mediante una prueba comercial de hibridación inversa (Genotype® MTBDR, de Hain), dos con una PCR a tiempo real (GenXpert de Cepheid) y el laboratorio restante por PCR-RFLP. De estos 14 participantes, 6 efectuaron únicamente pruebas genotípicas, y los 8 restantes realizaron además un método de dilución en medio líquido o E-test®.

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

Método	Número	%
Dilución en medio líquido	66	83,5
Proporciones+ E-test®	3	3,8
Dilución en medio líquido + E-test®	1	1,3
Disco - Difusión en Agar	1	1,3
E-test®	1	1,3
Proporciones	1	1,3
No informa	6	7,5
Total	79	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, destaca con diferencia el sistema automatizado Bactec® MGIT 960, de Becton-Dickinson, que fue usado por 60 centros (el 76,0% de los participantes que realizaron antibiograma). Otros siete centros realizaron también dilución en caldo pero utilizando el sistema VersaTrek® (bioMérieux). Cuatro centros realizaron dos técnicas de sensibilidad, que fueron el método de las proporciones junto con el E-test® (tres de ellos), y el método de las proporciones con la dilución en medio líquido (el centro restante). Hubo un considerable porcentaje de laboratorios (8,4%) que no aportaron información acerca de la marca comercial, entre ellos algunos de los participantes que remitieron la cepa a un laboratorio externo de referencia para realizar el estudio de sensibilidad. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 5.

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

Marca	Número	%
Bactec® MGIT 960 (Becton-Dickinson)	60	72,3
VersaTrek® (bioMérieux)	7	8,4
AB Biodisk (bioMérieux)	4	4,9
Manual <sup>a</sup>	5	6,0
No informa	7	8,4

Total 83 100,0

<sup>a</sup>Incluye método proporciones (4 centros) y difusión agar (1).

En la tabla 6 se muestran los resultados de sensibilidad aportados por el laboratorio que actuó como centro de referencia sobre cinco de los fármacos para los que existen criterios interpretativos según el CLSI.

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

Antimicrobiano	Concentración crítica (µg/ml)	Interpretación
Estreptomicina	1	S
Etambutol	5	S
Isoniazida	0,1	S
Pirazinamida	100	S
Rifampicina	1	S

S: Sensible.

Como se puede observar en la tabla 7, los resultados obtenidos frente a la isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol y estreptomicina 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 (%)
Estreptomicina	77	-	77	100,0
Etambutol	77	1	78	98,7
Isoniazida	76	2	78	97,4
Pirazinamida	61	2	63	96,8
Rifampicina	77	-	77	100,0

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De los 99 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 89 (89,9%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 3 centros indicaron que sí lo habían utilizado (3,0%), y los 7 restantes (7,1%) lo utilizaron 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. Asimismo, en este control se muestra un aumento de utilización de las pruebas de inmunocromatografía para la identificación de micobacterias.

## COMENTARIOS

Algunos participantes (6 centros) indicaron que no detectaron ninguna mutación en los genes de resistencia mediante las técnicas genotípicas utilizadas (principalmente con la hibridación inversa). Tres centros recomendaron tratamiento con isoniazida, rifampicina, pirazinamida (+/- etambutol) durante 6 meses. Por último, cuatro laboratorios señalan que el antibiograma lo enviarían a su centro de referencia.