

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-2/12)

En este control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium abscessus*, en medio de Löwenstein-Jensen. Había sido aislada de un varón de 67 años de edad, fumador de un paquete de cigarrillos/día, sin otros hábitos. El paciente acudió a Urgencias por presentar un cuadro de hemoptisis leve de varios días de evolución, febrícula vespertina, sensación disneica leve, y tos persistente, sin dolor torácico asociado. Como antecedentes médicos de interés, había presentado hacía 20 días, un episodio previo de hemoptisis, que cedió a las 48 horas. A la exploración, se auscultaban crepitantes pulmonares en base izquierda, con una saturación basal de oxígeno del 97%. La radiografía de tórax mostró un área de bronquiectasias quísticas posterobasal izquierda, y una pequeña zona de condensación basal subpleural adyacente. Se recogió una muestra de esputo que se remitió a Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. El paciente fue ingresado a cargo del servicio de Neumología, donde se realizó una fibrobroncoscopia, remitiéndose a las 48 horas de su ingreso una muestra del broncoaspirado para estudio microbiológico. A los 6 días de incubación, los cultivos de ambas muestras en medio líquido de micobacterias fueron positivos, creciendo la cepa 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**, 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. abscessus* por el laboratorio que actuó de referencia.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 108 participantes, de los que 94 remitieron la hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación real del 87,0%. Este porcentaje es idéntico al del último control de Micobacteriología y superior al control MB-2/09, en el que también se remitió una cepa de *M. abscessus* (la participación en dicho control fue entonces del 78,1%). El Programa de Control de Calidad aceptó como respuesta óptima la identificación de especie *M. abscessus*, y como aceptables las de *Mycobacterium abscessus/immunogenum*, y la de *Mycobacterium chelonae/abscessus*, por la elevada similitud genética que presentan *M. abscessus* con *M. immunogenum* y con *M. chelonae*. De hecho, la mayoría de los sistemas comerciales no pueden diferenciar *M. abscessus* de *M. immunogenum*, y además, algunos de ellos tampoco diferencian *M. abscessus* de *M. chelonae*. Como puede observarse en la tabla 1, la mayoría de los laboratorios (el 75,5%) identificaron correctamente la especie. Seis participantes (6,3%) informaron *M. chelonae/abscessus*, mientras que otros cuatro laboratorios (4,3%) respondieron *M. abscessus/immunogenum*. Así, el porcentaje de acierto total fue del 86,2%, similar al del control MB-2/09 (que fue del 89,0%).

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

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium abscessus</i>	71	75,5
<i>Mycobacterium chelonae / abscessus</i>	6	6,3
<i>Mycobacterium abscessus / immunogenum</i>	4	4,3
<i>Mycobacterium chelonae</i> grupo III	4	4,3
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i> )	4	4,3
<i>Mycobacterium chelonae</i> complex	3	3,2
<i>Mycobacterium chelonae</i>	2	2,1
Total	94	100,0

En cuanto a los métodos utilizados para la identificación (tabla 2), de los 94 centros que enviaron la hoja de respuesta, 6 participantes (6,2%) no aportaron información al respecto, recurriendo todos ellos a un laboratorio externo de referencia. La técnica mayoritaria fue la hibridación inversa, usada, en solitario o combinada con otro método, por al menos 70 centros participantes (74,5%). En segundo lugar destacan las pruebas bioquímicas clásicas que, en esta ocasión, sólo fueron utilizadas por 9 centros (el 9,6%), la mayoría de las ocasiones junto a métodos moleculares. Siete laboratorios (7,5%) realizaron un estudio de secuenciación para la identificación de la cepa, mientras que cinco (5,3%) utilizaron la espectrometría de masas.

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

Método	Número	%
Hibridación inversa	61	64,8
Secuenciación	5	5,3
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	4	4,2
Sonda	3	3,1
Espectrometría de masas + métodos moleculares + pr. bioquímicas	2	2,1
Espectrometría de masas	1	1,1
Espectrometría de masas + <i>spoligotyping</i>	1	1,1
Espectrometría de masas + hibridación inversa + secuenciación	1	1,1
Hibridación inversa + características morfoculturales	1	1,1

Hibridación inversa + crecimiento en NaCl	1	1,1
Hibridación inversa + PCR-RFLP <sup>a</sup>	1	1,1
Inmunocromatografía	1	1,1
Métodos moleculares	1	1,1
PCR a tiempo real	1	1,1
Pruebas bioquímicas	1	1,1
Pruebas bioquímicas + secuenciación	1	1,1
Pruebas bioquímicas + sonda + inmunocromatografía	1	1,1
Sonda + hibridación inversa + PCR-RFLP	1	1,1
No informa	6	6,2
Total	94	100,0

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

Este control demuestra, de nuevo, la mejora en la identificación de la cepa con la incorporación de los métodos moleculares. Así, 70 de los 71 centros que identificaron correctamente la cepa como *M. abscessus* realizaron algún método molecular. De ellos, destaca la hibridación inversa, informada explícitamente por 54 participantes.

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 53,6%), seguido del INNO-LiPA® de Innogenetics (15,5%). De los 52 participantes que utilizaron el GenoType® *Mycobacterium*, 46 de ellos (el 88,5%) identificaron óptimamente la cepa problema (*M. abscessus*), otros 4 laboratorios (7,7%) informaron *M. abscessus/immunogenum*, ya que este sistema no es capaz de diferenciar ambas especies, otro participante (1,9%) respondió *M. chelonae/abscessus*, y por último, otro centro (1,9%) informó complejo *M. chelonae*. Sin embargo, de los 15 usuarios que usaron INNO-LiPA®, solamente 6 (40,0%) informaron correctamente *M. abscessus*, mientras que 4 centros (26,7%) la identificaron como *M. chelonae* grupo III, otros 2 laboratorios (13,3%) informaron *M. chelonae/abscessus*, 2 centros (13,3%) informaron complejo *M. chelonae* y el centro restante (6,7%) *M. chelonae*. Cabe destacar, nuevamente, el considerable número de participantes que no aportaron información sobre el equipo comercial usado (el 11,3%), 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	% acierto
GenoType® <i>Mycobacterium</i> (Hain)	52	53,6	98,1
InnoLipa® (Innogenetics)	15	15,5	53,4
Manual <sup>a</sup>	7	7,2	100,0
Accuprobe® (bioMérieux)	5	5,2	40,0
Maldi-Tof®	5	5,2	100,0
Becton-Dickinson (inmunocromatografía)	1	1,0	0,0
Speed-Oligo® <i>Mycobacteria</i> (Vircell)	1	1,0	100,0
No informa	11	11,3	90,9
Total	97	100,0	78,1

<sup>a</sup>Se 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 59 (62,8%) de los 94 centros que enviaron hoja de respuesta (tabla 4). La técnica mayoritaria fue el E-test®, informado por 32 centros (el 54,2% de las respuestas con antibiograma, 44,0% de forma aislada), seguido de la microdilución, realizada por 12 centros (20,3%, en el 15,2% como método único).

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

Método	Número	%
E-test®	26	44,0
Microdilución	9	15,2
Disco-placa	5	8,5
Disco-placa + E-test®	2	3,4
E-test® + microdilución	2	3,4
Dilución en medio líquido	1	1,7
Dilución en medio líquido + E-test®	1	1,7
Dilución en medio líquido + microdilución	1	1,7
Disco-placa + dilución en medio líquido	1	1,7
Proporciones + E-test®	1	1,7
No informa	10	17,0
Total	59	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, los más frecuentes fueron las tiras de E-test® de bioMérieux (32 centros, 48,5%). De los doce centros que realizaron microdilución, nueve emplearon el sistema comercial Sensititre® (13,6%), un centro usó el Microscan (1,5%), otro la hizo de forma manual (1,5%), mientras que otro participante no aportó información al respecto. Hubo un considerable porcentaje de laboratorios (16,7%) que no informaron 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 (tabla 5).

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

Marca	Número	%
E-test® (bioMérieux)	32	48,5
Sensititre®	9	13,6
Bactec® MGIT 960 (Becton-Dickinson)	3	4,6
Microscan®	1	1,5
Versatrek®	1	1,5
Manual <sup>a</sup>	9	13,6
No informa <sup>b</sup>	11	16,7
Total	66	100,0

<sup>a</sup>Incluye disco-placa (7), microdilución (1) y proporciones (1).

En la tabla 6 se muestran los resultados de sensibilidad aportado por el laboratorio que actuó como centro de referencia sobre once de los fármacos para los que existen criterios interpretativos según las normas del CLSI.

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

Antimicrobiano	Concentración crítica (µg/ml)	Interpretación <sup>a</sup>
Claritromicina	1	S
Tobramicina	2	S
Amikacina	2	S
Ciprofloxacino	4	R
Moxifloxacino	4	R
Imipenem	32	R
Cefoxitina	128	R
Doxiciclina	>16	R
Minociclina	>8	R
Cotrimoxazol	>8	R
Linezolid	8	S

<sup>a</sup>S: sensible; I: intermedio; R: resistente.

En la tabla 7 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue superior a 10. En total, se han recibido resultados correspondientes a 36 antibióticos diferentes. Como se observa en la tabla 7, existe una excelente concordancia entre los laboratorios participantes y el centro de referencia, en cuanto a la sensibilidad de la cepa frente a la amikacina, claritromicina, cotrimoxazol, doxiciclina, tobramicina y quinolonas. Pero, existen discrepancias (como el caso de la cefoxitina o el linezolid) en que las diferentes interpretaciones se deben a variaciones en una o dos diluciones.

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

Antimicrobiano	Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Total	Concordancia (%)
Amikacina	53	2	-	2	57	93,0
Amoxicilina-clavu.	-	-	10	1	11	-
Cefoxitina	11	3	22	2	38	57,9
Ciprofloxacino	3	1	41	2	47	87,2
Claritromicina	46	2	3	2	53	86,8
Cotrimoxazol	3	-	28	1	32	87,5
Doxiciclina	4	1	27	1	33	81,8
Imipenem	6	3	33	2	44	75,0
Levofloxacino	1	-	11	-	12	-
Linezolid	12	4	17	2	35	34,3
Moxifloxacino	1	-	11	1	13	84,6
Rifampicina	-	-	12	-	12	-
Tobramicina	22	3	4	2	31	71,0

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De los 94 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 75 (79,8%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 11 centros indicaron que sí lo habían utilizado (11,7%), y 8 centros (8,5%) 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 no tuberculosas, y que esta capacitación va en aumento, ligada a la progresiva implantación de los métodos moleculares comerciales.

## COMENTARIOS

Algunos participantes (9 centros) recomendaron tratamiento con claritromicina asociado a amikacina. Cuatro centros comentaron que la detección de *M. abscessus* en muestras clínicas era de difícil valoración. Tres centros afirmaron que se debe hacer una segunda lectura de los macrólidos a los 14 días, para detectar la resistencia inducible a este grupo antibiótico. Otros tres centros especificaron que convendría enviar la cepa a un laboratorio de referencia para el estudio de sensibilidad. Por último, dos centros indicaron que el antibiograma en esta especie de micobacterias no está estandarizado.