

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-2/13)

En el presente control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium fortuitum* en medio de Löwenstein-Jensen. Había sido aislada de una mujer de 49 años de edad que se había sometido hacía 12 días a una cirugía plástica de mama. La paciente acudió a revisión por supuración de la herida quirúrgica y “mal aspecto” de la misma. A la exploración, se objetivaba alrededor de la herida una zona eritematosa, de color rojo violáceo, con zonas centrales fluctuantes, y drenaje a través de un orificio fistuloso de material serosanguinolento. La paciente no presentaba fiebre ni otras manifestaciones clínicas sistémicas. Se realizó limpieza y desbridamiento de la herida, y se tomaron muestras de exudado que fueron remitidas al Servicio de Microbiología para cultivo bacteriológico, micológico y de micobacterias. A los seis días de incubación creció, en medio líquido y en medio de Löwenstein-Jensen, la micobacteria que era objeto de este control.

Se solicitó a los centros participantes la **identificación** de la micobacteria implicada en el caso clínico y la realización de **pruebas de sensibilidad**, así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que consideraran oportunos. La cepa fue identificada como *M. fortuitum* por el laboratorio que actuó de referencia mediante métodos moleculares (hibridación inversa y secuenciación).

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

Se envió la cepa a un total de 109 centros participantes, de los que 94 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación real del 86,2%. Este porcentaje es muy similar al del último control de Micobacteriología (se remitió una cepa de *Mycobacterium kansasii*) pero superior al control MB-1/07, en el que también se envió una cepa de *M. fortuitum* (participación del 77,7%). Desde el Programa de Control de Calidad SEIMC, se consideraron aceptables las siguientes identificaciones: *M. fortuitum*, *M. fortuitum* (complejo) y *M. fortuitum-peregrinum* (complejo).

Como puede observarse en la tabla 1, la inmensa mayoría de los centros (el 96,9%) aportó una identificación aceptable, de los cuales un 89,4% informó correctamente la especie, porcentaje claramente superior al del control MB-1/07 (entonces un 72,5% de los participantes informaron esta especie). El resto de los laboratorios (3,1%) tan sólo realizaron una aproximación genérica como micobacteria no tuberculosa o informaron únicamente género *Mycobacterium*.

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

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	84	89,4
<i>Mycobacterium fortuitum-peregrinum</i> (complejo)	4	4,3
<i>Mycobacterium fortuitum</i> (complejo)	3	3,2
<i>Mycobacterium</i> (no <i>M. tuberculosis</i> )	2	2,1
Género <i>Mycobacterium</i>	1	1,0
Total	94	100,0

Por lo que respecta a los métodos utilizados para la identificación, sólo cuatro de los 94 centros que enviaron hoja de respuesta (4,3%) no aportaron información al respecto, de los cuales tres recurrieron a un laboratorio externo de referencia y el cuarto informó únicamente género *Mycobacterium*. La hibridación inversa fue el método empleado mayoritariamente por los participantes (67 centros, el 71,3%), de forma única o junto a otros métodos moleculares o pruebas bioquímicas. En segundo lugar figuran las pruebas bioquímicas convencionales solas o combinadas con métodos moleculares, por 10 centros (10,6%). Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

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

Método	Número	%
Hibridación inversa	59	62,9
Secuenciación	6	6,4
Espectrometría de masas	4	4,3
Oligocromatografía	4	4,3
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	3	3,2
Pruebas bioquímicas	3	3,2
Pruebas bioquímicas + hibridación inversa	3	3,2
Hibridación inversa + secuenciación	2	2,2
Espectrometría de masas + hibridación inversa	1	1,0
Espectrometría de masas + hibridación inversa + secuenciación	1	1,0
Hibridación inversa + características morfo-culturales	1	1,0
Inmunocromatografía	1	1,0
Pruebas bioquímicas + sonda	1	1,0
Sonda	1	1,0
No informa	4	4,3
Total	94	100,0

Respecto a los dos participantes que realizaron la identificación de *Mycobacterium no tuberculosis*, uno comentó que sólo disponía de sondas de nucleótidos para *M. tuberculosis* mientras que el otro centro utilizó una inmunocromatografía para la detección de *M. tuberculosis* con resultado negativo. El participante que respondió género *Mycobacterium* no informó de ningún método para la identificación de micobacterias.

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 mayoritariamente el equipo comercial GenoType® *Mycobacterium* de Hain (el 51,9%), seguido del INNO-LiPA® de Innogenetics (10,4%). Ambos sistemas mostraron un excelente índice de acierto en la identificación; aunque, sin embargo, el INNO-LiPA® únicamente detecta el complejo *M. fortuitum*, mientras que el GenoType® *Mycobacterium* es capaz de distinguir *M. fortuitum* de *M. peregrinum*. Tanto los nueve centros que emplearon el Maldi-Tof® como los cuatro que utilizaron el Speed-Oligo® *Mycobacteria* acertaron en la identificación de la especie.

Las técnicas manuales para la identificación de micobacterias fueron informadas por 20 centros (18,9%), que incluían las pruebas bioquímicas (10), la secuenciación (9) y las características morfo-culturales de la cepa (1); mostrando todas ellas unos excelentes resultados. Dos centros (1,8%) emplearon una sonda de ácidos nucleicos de la marca AccuProbe® (Gen-Probe® de bioMérieux) para la identificación de *M. tuberculosis*, obviamente incapaz de identificar *M. fortuitum*, aunque uno de estos dos laboratorios acertó la identificación de la cepa al utilizar también pruebas bioquímicas. Como dato positivo, como ya sucedía en el último control de micobacterias, hubo muy pocos centros (4, el 4,3%) que no informaron del método empleado, ello debido, principalmente, a que son cada vez más los laboratorios que emplean por sí solos algún método molecular (o de espectrometría de masas) para la identificación de micobacterias.

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

Método comercial	Número	% uso	% acierto
GenoType® <i>Mycobacterium</i> (Hain)	55	51,9	100,0
Manual <sup>a</sup>	20	18,9	100,0
InnoLipa® (Innogenetics)	11	10,4	100,0 <sup>b</sup>
Maldi-Tof	9	8,5	100,0
Speed-Oligo® <i>Mycobacteria</i> (Vircell)	4	3,8	100,0
Accuprobe (Gen-Probe®, bioMérieux) <sup>c</sup>	2	1,8	0,0
Becton-Dickinson <sup>d</sup>	1	0,9	0,0
No informa	4	3,8	75,0
Total	106	100,0	96,2

<sup>a</sup>Se incluyen: pruebas bioquímicas (10), secuenciación (9) y características morfo-culturales (1).

<sup>b</sup>Cinco centros informaron la especie *M. fortuitum* y los seis restantes el complejo.

<sup>c</sup>Dos centros utilizaron sondas para *M. tuberculosis*, uno de ellos junto con pruebas bioquímicas.

<sup>d</sup>Inmunocromatografía para la detección de *M. tuberculosis*.

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

El estudio de sensibilidad fue realizado por 60 (63,8%) de los 94 centros que enviaron la hoja de respuesta con resultado evaluable. De ellos, únicamente tres participantes (5,0%) no aportaron datos sobre el método empleado, debido a que enviaron la cepa a un centro externo. Del resto, cabe destacar que el 61,7% de los centros emplearon el E-test® (48,3% como método único), el 28,3% la microdilución en caldo y el 20,0% utilizaron un método de disco-placa. La totalidad de métodos empleados quedan reflejados en la tabla 4.

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

Método	Número	%
E-test®	29	48,3
Microdilución	14	23,3
Disco-placa	5	8,3
Disco-placa + E-test®	5	8,3
E-test® + Microdilución	1	1,7
Microdilución + Disco-placa	1	1,7
Microdilución + E-test® + disco-placa	1	1,7
Proporciones + E-test®	1	1,7
No informa	3	5,0
Total	60	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, destacan, en primer lugar, y como cabría esperar del análisis de métodos, las tiras de E-test® de bioMérieux (52,9%), seguidas de los paneles de microdilución Sensititre® (20,0%). Como aspecto positivo, en relación a otros controles de micobacterias, en este control se ha producido una disminución del porcentaje de laboratorios que no aportan información acerca de la marca comercial, debido a que son más los laboratorios que realizan pruebas de sensibilidad de micobacterias (tabla 5).

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

Marca	Número	%
E-test® (bioMérieux)	37	52,9
Sensititre®	14	20,0
Microscan®	1	1,4
Manual <sup>a</sup>	14	20,0
No informa	4	5,7
Total	70	100,0

<sup>a</sup>Incluye disco-placa (12), microdilución (1) y proporciones (1).

En la tabla 6 se muestran los resultados de sensibilidad aportados por el laboratorio que actuó como centro de referencia sobre ocho de los fármacos para los que existen criterios interpretativos según las normas del CLSI para las micobacterias de crecimiento rápido; dicho laboratorio empleó como método la microdilución en caldo (panel comercial, Sensititre®).

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

Antimicrobiano	Concentración crítica (µg/ml)	Interpretación <sup>a</sup>
Amikacina	≤1	S
Cefoxitina	32	I
Ciprofloxacino	≤0,12	S
Cotrimoxazol	0,5	S
Claritromicina	2	S
Doxiciclina	8	R
Imipenem	4	S
Linezolid	4	S
Moxifloxacino	≤0,25	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 34 antibióticos diferentes. Como se puede observar en esta tabla, 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, ciprofloxacino, doxiciclina y moxifloxacino. Sin embargo, la concordancia entre el resto de antibióticos recomendados por el CLSI oscilaba entre el 40,0% y el 58,4%.

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

Antimicrobiano	Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta	Total	Concordancia (%)
Amikacina	58	–	1	–	59	98,3
Amoxicilina-clavulánico	–	1	10	–	11	–
Cefoxitina	6	16	18	–	40	40,0
Ciprofloxacino	50	–	1	–	51	98,0
Cotrimoxazol	25	–	19	1	45	55,6
Claritromicina	23	7	25	–	55	41,8
Doxiciclina	31	–	31	–	31	100,0
Imipenem	23	4	23	–	50	46,0
Levofloxacino	14	–	–	–	14	–
Linezolid	21	4	10	1	36	58,4
Moxifloxacino	21	–	–	–	21	100,0
Tigeciclina	13	1	–	1	15	–
Tobramicina	4	4	14	–	22	–

La variabilidad de interpretación de los resultados es tan amplia que no se ha podido describir una clara correlación entre el método de sensibilidad utilizado y el valor de la CMI obtenido, observándose incluso variaciones intramétodo, que en ocasiones se pueden atribuir a la existencia de CMIs cercanas a los valores establecidos como punto de corte (claritromicina, imipenem..). Así por ejemplo, en el caso del imipenem, de los 23 centros que informaron la cepa como resistente, 19 realizaron el E-test® y los 4 restantes microdilución mediante Sensititre®. Por contra, de los 23 laboratorios que informaron el imipenem como sensible, 5 emplearon disco-placa, 5 E-test®, 3 microdilución mediante Sensititre®, y el resto diferentes combinaciones entre estos métodos.

En este control se volvió a solicitar a los participantes que informasen que criterios de puntos de corte utilizaron para la interpretación del antibiograma de micobacterias. De los 60 laboratorios que realizaron antibiograma de micobacterias, 42 (70,0%) utilizaron los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), otros 3 centros (5,0%) los del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), y 11 laboratorios (18,3%) según los publicados en la bibliografía. Por último, tres laboratorios indicaron que habían recibido el resultado del antibiograma

de su centro de referencia, desconociendo que criterios había utilizado éste, mientras que hubo un participante que no aportó información al respecto. Todos estos datos se resumen en la tabla 8.

**Tabla 8. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.**

Marca	Número	%
CLSI	42	70,0
Bibliografía	11	18,3
Antibiograma en centro de referencia	3	5,0
EUCAST	3	5,0
Casilla en blanco	1	1,7
Total	60	100,0

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De los 94 centros que llevaron a cabo la identificación de la cepa, 77 (81,9%) afirmaron no haber utilizado un laboratorio externo de referencia, 6 centros indicaron que sí lo habían utilizado (6,4%) y 11 centros (11,7%) lo utilizaron parcialmente. Así, de manera similar a lo que ha ocurrido en los últimos controles, y a la vista de los resultados obtenidos, son cada vez más los laboratorios participantes en el Programa de Control de Calidad que ya disponen de los recursos técnicos necesarios para realizar la identificación de micobacterias no tuberculosas.

## COMENTARIOS

El principal comentario (10 centros) se refería a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento combinado con fluoroquinolonas más amikacina durante 4 meses (algunos centros recomendaban añadir también el imipenem, mientras que otros preferían la combinación de fluoroquinolonas más claritromicina). Cinco laboratorios especificaron que la cepa presentaba una CMI elevada al imipenem, inusual en esta especie, por lo que remitirían la cepa a su laboratorio de referencia para su confirmación.

Cuatro centros comentaron que el cuadro clínico del caso era compatible con una infección por *M. fortuitum*. Dos participantes que realizaron E-test especificaron que el método de referencia para el estudio de sensibilidad en esta especie era la microdilución en caldo, por lo que los valores de las CMIs pueden diferir entre ambas técnicas.

Por último, seis laboratorios que no informaron estudio de sensibilidad comentaron que en caso de una muestra clínica, enviarían la cepa a su centro de referencia para antibiograma.