

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOBACTERIAS (MB-2/14)

En este control, se envió a los participantes una cepa de *Mycobacterium tuberculosis*, en medio de Lowenstein-Jensen. Había sido aislada de una mujer de 67 años de edad, que era remitida por su médico de familia al neumólogo de zona por presentar un cuadro de astenia, tos no productiva y febrícula vespertina de aproximadamente un mes de evolución, que no ha habido a pesar de diferentes tratamientos antibióticos. La paciente presentaba como antecedentes de interés el estar recibiendo un tratamiento inmunosupresor desde hacía casi un año, debido a un problema reumatológico de base. En la radiografía de tórax se observaba un infiltrado en el segmento apical del lóbulo superior derecho con adenopatías parahiliares ipsilaterales. Se remitieron tres muestras de esputo para estudio bacteriológico (sin aislamientos significativos) y de micobacterias. Aunque la baciloscopia directa resultó negativa, a los 32 días de incubación en medio líquido, crece a partir de una de las tres muestras la micobacteria que es objeto del presente 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 los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos. La cepa fue identificada, mediante métodos moleculares (hibridación inversa), como *M. tuberculosis* por el laboratorio que actuó de referencia.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

La cepa problema fue enviada a los 111 centros participantes, de los que 99 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación real fue del 89,2%, similar al del último control (que fue del 91,0% para una cepa de *Mycobacterium gastrii*) y también similar al del control MB-2/11, en el que también se remitió una cepa de *M. tuberculosis* (en dicho control el porcentaje de participación fue del 88,4%).

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, algo más de la mitad de los centros (el 52,5%) informó correctamente la especie *M. tuberculosis*, mientras que la otra mitad (el 47,5%) informó el complejo *M. tuberculosis*, con lo que el porcentaje de acierto global fue del 100,0%. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 1.

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

Identificación	Número	%
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	52	52,5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex	47	47,5
Total	99	100,0

Respecto a los métodos utilizados para la identificación, de los 99 laboratorios que enviaron la hoja de respuesta, sólo 3 participantes (3,0%) no aportaron información al respecto (tabla 2).

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

Método	Número	%
Hibridación inversa	40	40,4
Inmunocromatografía	21	21,3
Sonda	12	12,2
Hibridación inversa + Inmunocromatografía	4	4,1
Espectrometría de masas	3	3,0
PCR a tiempo real	3	3,0
Oligocromatografía	2	2,0
PCR	2	2,0
Espectrometría de masas + Sonda + Pruebas bioquímicas	1	1,0
Hibridación inversa + PCR a tiempo real	1	1,0
Inmunocromatografía + Hibridación inversa + Oligocromatografía	1	1,0
Inmunocromatografía + Métodos fenotípicos	1	1,0
Inmunocromatografía + PCR a tiempo real	1	1,0
Inmunocromatografía + Sonda	1	1,0
Pruebas bioquímicas + Hibridación inversa	1	1,0
Secuenciación	1	1,0
Sonda + Hibridación inversa	1	1,0
No informa	3	3,0
Total	99	100,0

Las técnicas de hibridación inversa fueron usadas, en solitario o en combinación con otro método (inmunocromatografía, pruebas bioquímicas, PCR convencional o a tiempo real o sondas), por 48 centros participantes

(48,5%). Destaca en este control el considerable número de laboratorios que realizan una técnica inmunocromatográfica para la detección del complejo *M. tuberculosis* (29 participantes, el 29,3% de los mismos). Las sondas de nucleótidos frente al complejo *M. tuberculosis* fueron informadas por 15 centros (15,2%), en ocasiones asociadas a otras técnicas. Fueron 4 (4,1%) los laboratorios que emplearon la espectrometría de masas, mientras que las pruebas bioquímicas únicamente se informaron en 3 de los participantes (3,0%), siempre junto con métodos moleculares o inmunocromatográficos. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

La marca comercial más utilizada por el conjunto de los participantes (tabla 3) fue el sistema de hibridación inversa GenoType® *Mycobacterium* de Hain (el 41,6% respecto al conjunto de las técnicas de identificación informadas), seguido de la inmunocromatografía MGIT® TBc de Becton-Dickinson (14,2%), de las sondas de ácidos nucleicos Accuprobe® de Gen-Probe, bioMérieux (13,3%) y de la prueba de inmunocromatografía de Standard Diagnostics Biline (8,9%). El conjunto de las marcas informadas se muestra en la tabla 3.

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

Método comercial	Número	% uso
GenoType® <i>Mycobacterium</i> (Hain)	47	41,6
Becton-Dickinson <sup>b</sup>	16	14,2
Accuprobe® (Gen-probe, bioMérieux)	15	13,3
Standard Diagnostics Biline <sup>b</sup>	10	8,9
GeneXpert® (Cepheid)	4	3,5
Maldi-Tof (Bruker y Vitek)	4	3,5
Alere <sup>b</sup>	3	2,6
Speed-Oligo® <i>Mycobacteria</i> (Vircell)	2	1,8
INNO-LiPA® (Fujirebio)	1	0,9
Manual <sup>a</sup>	8	7,1
No informa	3	2,6
Total	113	100,0

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

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

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

El estudio fenotípico de sensibilidad fue realizado por 83 (83,8%) de los 99 centros que enviaron hoja de respuesta con resultado evaluable (tabla 4). La técnica mayoritaria fue la dilución en medio líquido, realizada por 76 centros (el 91,6% de las respuestas con antibiograma, 88,0% de forma aislada). Otros métodos empleados fueron el E-test® (6,0% de los centros con antibiograma, 3,6% como única técnica), y el método de las proporciones manual (2 centros, el 2,4% de los centros con antibiograma).

Por otra parte, 11 centros realizaron detección de algunos de los genes de resistencia a los antituberculosos mediante una prueba comercial de hibridación inversa (GenoType® MTBDRplus de Hain), que detecta mutaciones genotípicas que determinan resistencia a la isoniazida y rifampicina. Uno de estos centros empleó, además, el GenoType® MTBDRsl de Hain, que detecta mutaciones de resistencia a otros fármacos antituberculosos. De estos 11 participantes, 3 efectuaron únicamente pruebas genotípicas para la sensibilidad, mientras que, los 8 restantes los emplearon conjuntamente con la dilución en medio líquido o con el E-test®.

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

Método	Número	%
Dilución en medio líquido	73	88,0
E-test®	3	3,6
Dilución en medio líquido + E-test®	1	1,2
Dilución en medio líquido + Proporciones	1	1,2
Disco-placa + Dilución en medio líquido	1	1,2
Proporciones+ E-test®	1	1,2
No informa	3	3,6
Total	83	100,0

En cuanto a los equipos comerciales empleados, destacan, en primer lugar, y como cabría esperar del análisis de métodos, el sistema automatizado Bactec® MGIT de Becton-Dickinson, que fue usado por el 78,2% de los participantes. Otros siete centros (8,0%) realizaron también dilución en caldo pero utilizando el sistema VersaTrek® de bioMérieux. A continuación, se encuentran las tiras de E-test® de bioMérieux (5,7%). Como dato positivo, únicamente

un 4,6% de los centros no informa de este dato, lo que refleja indirectamente que son cada vez más los laboratorios que son capaces de realizar un antibiograma de *M. tuberculosis*. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 5.

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

Marca	Número	%
Bactec® MGIT (Becton-Dickinson)	68	78,2
VersaTrek® (bioMérieux)	7	8,0
E-test® (bioMérieux)	5	5,7
Manual <sup>a</sup>	3	3,5
No informa	4	4,6
Total	87	100,0

<sup>a</sup>Incluye método proporciones (2 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	Interpretación
Etambutol	S
Isoniacida	S
Estreptomina	S
Pirazinamida	S
Rifampicina	S

S: Sensible.

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 12 antibióticos diferentes. Como se observa en dicha tabla, existe una excelente concordancia entre los laboratorios participantes y el centro de referencia, en cuanto a la sensibilidad de la cepa frente a todos los antimicrobianos ensayados por el laboratorio que actuó como de referencia.

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

Antimicrobiano	Sensible	Resistente	Total	Concordancia (%)
Estreptomina	81	2	83	97,6
Etambutol	81	2	83	97,6
Isoniazida	83	-	83	100,0
Pirazinamida	68	1	69	98,6
Rifampicina	82	-	82	100,0

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 83 laboratorios que realizaron un antibiograma de micobacterias, 57 (68,7%) comentaron que utilizaron los criterios del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), 10 laboratorios (12,0%) los publicados en la bibliografía, y otros 3 (3,6%) los criterios del EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Por último, 11 centros indicaron que utilizaron los puntos de corte recomendados por el BACTEC® MGIT® (diez) o por el E-test® (uno), un laboratorio recibió el resultado del antibiograma de su centro de referencia desconociendo que criterios había utilizado éste, y un centro 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	57	68,7
Según puntos de corte del fabricante	11	13,3
Bibliografía	10	12,0
EUCAST	3	3,6
Antibiograma en centro de referencia	1	1,2
No informa	1	1,2
Total	83	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.

## **COMENTARIOS**

Como ya se ha señalado, algunos participantes (11 centros) indicaron que no detectaron ninguna mutación que determinara resistencia con la hibridación inversa. Cuatro centros recomendaron tratamiento con isoniazida, rifampicina, pirazinamida (+/- etambutol) durante 6 meses. Tres centros retirarían la administración de inmunosupresores a la paciente.

Por último, tres laboratorios señalan que el antibiograma lo enviarían a su centro de referencia.