

Tabla 1
Comparación de cepas discrepantes entre Speed-oligo y Genotype

Speed-oligo®	Genotype®	Secuenciación ITS	Secuenciación 16S rRNA
<i>Mycobacterium</i> sp.	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. lentiflavum</i> AF318174.1	<i>M. lentiflavum</i> GU142924.1
<i>Mycobacterium</i> sp.	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. fortuitum</i> AM709726.1	<i>M. mageritense</i> HQ214129.1
<i>Mycobacterium</i> sp.	<i>M. chelonae</i> ^a	<i>M. lentiflavum</i> AF318174.1	<i>M. lentiflavum</i> GU142924.1

^a Dos aislamientos del mismo paciente.
Se incluyen números de acceso a Genbank.

nitrocelulosa usando sondas unidas a oro coloidal y a la membrana. Es una técnica rápida (menos de 2 h en total, con un tiempo de hibridación de 5 min) que permite detectar simultáneamente el género *Mycobacterium* y hasta 12 especies distintas, algunas de ellas en forma de complejo: complejo *M. tuberculosis*, complejo *M. avium-intracellulare-scrofulaceum* (MAIS), complejo *M. chelonae-abscessus*, *M. fortuitum*, *M. kansasii* y *M. gordonae*⁵. El método GenoType CM/AS realiza una amplificación múltiple con primers marcados con biotina y una hibridación reversa^{6,7}.

Se han estudiado de forma prospectiva 60 aislamientos de MNT obtenidos en medio de cultivo Bactec® MGIT 960, Becton-Dickinson (New Jersey, EE.UU.) correspondientes a 51 pacientes y diversos tipos de muestra (53 esputos, 3 broncoaspirados, 2 biopsias y 2 orinas). De los 60 aislados estudiados, 54 mostraron un resultado inicialmente concordante entre ambas técnicas: 23 del complejo MAIS (13 *M. avium*, 9 *M. intracellulare* y una *M. scrofulaceum* con la técnica GenoType), 10 del complejo *M. chelonae-abscessus* (7 *M. chelonae* y 3 *M. abscessus* por GenoType), 8 *M. gordonae*, 6 *M. fortuitum*, 3 *M. kansasii* y una identificada como género *Mycobacterium*. Tres cepas fueron identificadas como *M. lentiflavum* mediante GenoType y como género *Mycobacterium* por Speed-oligo, que no identifica esta especie, por lo que consideramos estos resultados también como concordantes. En 6 aislamientos obtuvimos un resultado discrepante entre ambos métodos, 4 identificados por GenoType como *M. fortuitum* y 2 como *M. chelonae* (ambas del mismo paciente) y todas como género *Mycobacterium* por Speed-oligo. En estos casos se repitió la técnica Speed-oligo con el doble de volumen de medio de cultivo MGIT positivo que el recomendado por el fabricante, con lo que se obtuvo un resultado válido y concordante con GenoType en 2 de ellas (*M. fortuitum* en ambos casos). La concordancia entre ambos métodos fue inicialmente del 90,0% (54/60) y del 93,3% (56/60) al repetir los test con mayor volumen de muestra. La secuenciación de los segmentos ITS 16-23 S rRNA y 16S rRNA^{9,10} de las cepas discrepantes proporcionó un resultado concordante con las identificaciones a nivel de género de Speed-oligo (tabla 1). *M. mageritense* fue identificado con un 100% de homología con la secuenciación 16S rRNA; la secuenciación de la región ITS dio como resultado *M. fortuitum* con una homología del 92%, probablemente por una reacción cruzada, ya que no está descrita su secuenciación por este método.

Aunque el número de cepas estudiado es pequeño, estos resultados parecen indicar que la técnica Speed-oligo Mycobacteria es capaz de identificar correctamente todas las micobacterias que incluye el test, si bien en ocasiones puede ser necesario aumentar el inóculo para obtener un resultado válido. Las principales ventajas de esta técnica es que permite una identificación rápida, válida y coste-efectiva de las especies más frecuentes de micobacterias aisladas en muestras clínicas. El test empleado

tenía una menor capacidad discriminativa respecto a Genotype en determinados complejos como *M. avium-intracellulare-scrofulaceum* (MAIS) y *M. chelonae-abscessus*, pero debido a la importancia de identificar las especies asociadas con más frecuencia a patología como *M. abscessus* o *M. scrofulaceum*, recientemente se ha rediseñado el test, pudiendo ahora individualizarse las especies de dichos complejos, e incluso se han añadido nuevas especies para detectar (*M. marinum*, *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. peregrinum*), encontrándose actualmente pendiente de evaluación.

Agradecimientos

A la Dra. Natalia Montiel Quezel-Guerraz, del Centro de Referencia de Micobacterias, Servicio de Microbiología, Hospital Costa del Sol (Marbella, Málaga, España), por su colaboración. Al Servicio de secuenciación del Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra de Granada por la generación de los archivos de secuenciación que ayudaron a resolver las discrepancias en la identificación. Y a Laboratorios Vircell por el suministro gratuito de los reactivos.

Bibliografía

- Tortoli E. Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections. Clin Microbiol Infect. 2009;15:906-10.
- Cassidy PM, Hedberg K, Saulson A, McNelly E, Winthrop KL. Nontuberculous mycobacterial disease prevalence and risk factors: a changing epidemiology. Clin Infect Dis. 2009;49:e124-9.
- Van Ingen J, Bendien SA, de Lange WC, et al. Clinical relevance of non-tuberculous mycobacteria isolated in the Nijmegen-Arnhem region, The Netherlands. Thorax. 2009;64:502-6.
- Piersimoni C, Scarparo C. Pulmonary infections associated with non-tuberculous mycobacteria in immunocompetent patients. Lancet Infect Dis. 2008;8:323-34.
- Russo C, Tortoli E, Menichella D. Evaluation of the new GenoType Mycobacterium assay for identification of mycobacterial species. J Clin Microbiol. 2006;44:334-9.
- Richter E, Rusch-Gerdes S, Hillemann D. Evaluation of the GenoType Mycobacterium Assay for identification of mycobacterial species from cultures. J Clin Microbiol. 2006;44:1769-75.
- Montiel Quezel-Guerraz N, Marin-Arriaga M, Carrillo-Avila JA, Sanchez-Yebra Romera WE, Martinez-Lirola MJ. Evaluation of the Speed-oligo(R) Mycobacteria assay for identification of *Mycobacterium* spp. from fresh liquid and solid cultures of human clinical samples. Diagn Microb Infect Dis. 2010;68:123-31.
- Hofmann-Thiel S, Turaev L, Alnour T, Drath L, Mullerova M, Hoffmann H. Multi-centre evaluation of the speed-oligo Mycobacteria assay for differentiation of *Mycobacterium* spp. in clinical isolates. BMC Infectious Diseases. 2011;11:353.
- Xiong L, Kong F, Yang Y, Cheng J, Gilbert GL. Use of PCR and reverse line blot hybridization macroarray based on 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer sequences for rapid identification of 34 *Mycobacterium* species. J Clin Microbiol. 2006;44:3544-50.
- Han XY, Pham AS, Tarrand JJ, Sood PK, Luthra R. Rapid and accurate identification of mycobacteria by sequencing hypervariable regions of the 16S ribosomal RNA gene. Am J Clin Pathol. 2002;118:796-801.

Inmaculada de Toro-Peinado*, Ana M. Fernández-Sánchez,
M. Pilar Bermúdez-Ruiz y Begoña Palop-Borrás

Sección de Microbiología, Hospital Regional Universitario Carlos Haya, Málaga, España

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: inmadetoro@yahoo.es (I. de Toro-Peinado).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2012.05.003>