

## CONTROL DE CALIDAD DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR (BM-1/01)

En este control se envió a los distintos laboratorios participantes una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) que pertenecía a un niño de dieciocho meses, sin antecedentes personales de interés, pero que había estado expuesto estrechamente a un familiar directo con tuberculosis pulmonar activa. El niño acudió a Urgencias pediátricas con un cuadro de rigidez generalizada, con postura en opistótono, sin fiebre, y que mejoraba parcialmente tras la administración de diacepam rectal. Se ingresó al paciente observándose un cuadro de somnolencia, rigidez de nuca, palidez cutánea, abdomen blando y depresible, sin visceromegalias. En el hemograma se constató una granulocitosis, y en el estudio del LCR un aumento de mononucleares, proteinorraquia e hipoglucorraquia. El cultivo bacteriano convencional del LCR resultó negativo y la sospecha inicial fue de una meningitis decapitada. A las 48 h del ingreso presentó fiebre, vómitos e hidrocefalia que requirió drenaje ventricular, siendo en este momento cuando se constató el posible cuadro de tuberculosis pulmonar del familiar, por lo que se decidió remitir una muestra de LCR al Laboratorio de Microbiología para descartar la presencia de meningitis tuberculosa y establecer el diagnóstico.

Se solicitó a los participantes la detección de genoma de *Mycobacterium tuberculosis*, que fue considerada como **positiva** por parte del laboratorio que actuó de referencia. En total, se envió muestra a 59 participantes.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

De los 59 laboratorios inscritos en el control remitieron respuesta 42, lo que supone un porcentaje de participación del 71,2%. De éstos, 32 (76,2%) indican que no necesitaron recurrir a un laboratorio externo para el análisis de la muestra, siete (16,7%) informaron haberlo utilizado y tres de los centros (7,1%) no aportaron información acerca de este dato.

En cuanto a la detección del genoma de *M. tuberculosis* en la muestra remitida, se consigna como positiva en todos los laboratorios que contestaron, con excepción de uno, que lo informa como negativo y que le fue a su vez informado por un laboratorio externo (no se informa de la marca utilizada). Cinco centros no informaron ningún resultado, dos de estos cinco, comentan que han enviado la muestra al laboratorio de referencia y no disponen del resultado todavía; y los tres restantes dicen que no disponen de dicha técnica en su laboratorio. De estos datos se deduce que en el 85,7% de las ocasiones en que se realizó la prueba se detectó el genoma de dicha bacteria. Los datos se resumen en la tabla 1.

**Tabla 1. Resultados de la detección de genoma de *M. tuberculosis*.**

Prueba	Número	%
Positiva	36	85,7
Negativa	1	2,4
No realizan la prueba	5	11,9
Total	42	100,0

Con respecto al método y marca utilizada, tres de los centros informan realizar dos técnicas distintas, con resultado positivo en ambas. Por lo tanto, en la tabla 2 se analizan 39 resultados pertenecientes a 36 laboratorios.

**Tabla 2. Métodos y marcas empleados en el control.**

Método	Marca	Número	%
PCR	<i>In house</i>	4	10,2
	<i>In house</i> anidada	3	7,8
	DiaSorin	1	2,6
	Amplicor (Roche)	6	15,4
	No informada	1	2,6
	Pharma-Gen	1	2,6
MTD	Gen-Probe	13	33,3
LCR <sup>a</sup>	LCx (Abbott)	5	12,8
SDA	Probe-Tec (BD)	3	7,8
Genotipado	Genotype Mycobacteria	1	2,6
Inno-LiPa	Innogenetics	1	2,6
Total		39	100,0

<sup>a</sup>LCR: *ligase chain reaction*

Básicamente, los participantes emplearon métodos comerciales. El método que se utilizó mayoritariamente fue la PCR, incluyendo todas sus modalidades, siendo el sistema comercial Amplicor de Roche (15,4%) y las técnicas de desarrollo propio *in house* las más frecuentes. Del resto de métodos destaca el MTD de Gen-Probe, que fue utilizado por 15 participantes, por lo tanto el más común si consideramos los métodos individualmente. El método de la reacción de la ligasa (LCR, en la tabla) también fue relativamente frecuente.

## COMENTARIOS

De los 42 participantes que remiten hoja de contestación, se obtienen 20 comentarios diferentes (tabla 3). Los comentarios son muy variados, y se han agrupado intentando no desvirtuar la información que pretenden transmitir.

**Tabla 3. Comentarios al caso clínico y muestra remitidos por el Control de Calidad.**

<b>Comentarios</b>	<b>Número</b>
Resultado compatible con clínica, bioquímica y antecedentes familiares	3
Meningitis tuberculosa por diseminación del complejo primario	2
Métodos optimizados para muestras respiratorias	2
La FDA <sup>a</sup> aprueba Amplicor y MTD en muestras respiratorias	1
Muestra respiratoria, mejor para el Control de Calidad	1
Hay que realizar cultivo de para descartar un falso positivo por contaminación	1
Meningitis tuberculosa confirmada por PCR	1
Con esta técnica solo se detecta el complejo <i>M. tuberculosis</i>	1
El producto de amplificación de 600 pb identifica género	1
PCR positiva de muestra directa	1
Si la baciloscopia es positiva, la sensibilidad de la técnica es del 100%	1
Raro que se trate de un falso positivo	1
Resultado positivo débil	1
Baciloscopia positiva y cultivo de micobacterias negativo	1
Cultivo de micobacterias positivo a los 20 días	1
Hay que realizar estudio de contactos y quimioprofilaxis	1
Total	20

<sup>a</sup>FDA: *Federal Drug Administration* norteamericana.

A pesar de que los comentarios no son muy numerosos en términos absolutos, sí que se pueden observar ciertas tendencias dignas de mención. Así, hay un grupo de comentarios relativos a conveniencia de realizar métodos de detección de genoma de *M. tuberculosis* en muestras clínicas. Algunos laboratorios indican que las técnicas de PCR para detectar genoma de *M. tuberculosis*, no están aprobadas por la FDA norteamericana en muestras de LCR, pero sí en las respiratorias (Amplicor y MTD), por lo que un participante dice que el Programa de Control de Calidad tenía que haber remitido una muestra respiratoria, en vez de un LCR. Otro participante afirma que el realizar una tinción para micobacterias apoyaría mucho el resultado de la PCR, incluso descartaría, junto con el cultivo de micobacterias, un posible falso positivo de la PCR debido a una contaminación cruzada con productos de amplificación. Hay otro grupo de comentarios que se refieren a las limitaciones de algunos métodos a la hora de realizar la identificación de especie *M. tuberculosis*. Por último, otros comentarios versan sobre aspectos clínicos, básicamente para indicar que las manifestaciones clínicas, los antecedentes epidemiológicos y las exploraciones complementarias nos debieran hacer sospechar que nos encontremos ante un caso de meningitis tuberculosa primaria. Otro participante informa que se tendría que iniciar un estudio de los contactos y administrar quimioprofilaxis en los casos en que fuera necesaria.