

## CONTROL DE CALIDAD DE BACTERIOLOGÍA (B-4/09)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Enterococcus faecium*. La historia clínica correspondía a una paciente de 78 años de edad, con antecedentes de hipertensión arterial y diabetes que padecía una insuficiencia valvular tricuspídea. Acudió a urgencias del hospital por presentar desde hacía varias semanas un considerable deterioro de su estado general, disnea a pequeños esfuerzos, astenia, anorexia y fiebre, que en el momento de la exploración fue de 37,8°C. Se decidió su ingreso al constatarse hepatoesplenomegalia, hipertensión y, por ecocardiografía, una vegetación en válvula tricúspide con importante estenosis de arteria pulmonar. Una vez en la sala se obtuvieron tres hemocultivos que fueron remitidos al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico, aislándose en todos ellos, a las 30 horas de incubación, la bacteria objeto de este control. A los pocos días de iniciarse el tratamiento antibiótico la fiebre desapareció y mejoró significativamente el estado general de la paciente.

Se solicitó a los participantes la **identificación** y el estudio de **sensibilidad** de la cepa remitida. Así mismo, podían hacerse en la hoja de respuesta los **comentarios** microbiológicos, clínicos, terapéuticos, etc. que se estimasen oportunos.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

La cepa problema fue enviada a los 269 centros participantes, de los que remitieron hoja de respuesta 247, lo que supone un porcentaje de participación del 91,8%, similar al del último control. La gran mayoría de los participantes identificaron correctamente el género y la especie (95,2%). Tres centros identificaron la cepa como *Enterococcus casseliflavus* y otros dos como *Enterococcus faecalis*. Por parte del control de calidad SEIMC sólo se consideró válida la identificación correcta del género y de la especie microbiana (*E. faecium*). La totalidad de las identificaciones informadas se muestra en la tabla 1.

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

Identificación	Número	%
<i>Enterococcus faecium</i>	235	95,2
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	3	1,2
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	0,8
Streptococo grupo <i>viridans</i>	2	0,8
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2	0,8
<i>Gemella morbillorum</i>	1	0,4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0,4
<i>Streptococcus mutans</i>	1	0,4
Total	247	100,0

La mayoría de los centros (233, el 94,4%) emplearon técnicas comerciales para identificar la cepa (tabla 2). De éstos, 6 participantes (2,4%) usaron, además, métodos manuales. Respecto a las técnicas manuales, fueron utilizadas por 14 centros (5,6%), en 8 de los cuales (3,2%) de forma única. En esta ocasión, como ya sucedió en el pasado control trimestral, ninguno de los centros realizó un estudio de secuenciación, esto puede estar en relación con la escasa dificultad diagnóstica que presenta esta bacteria mediante métodos habituales de identificación al alcance de todos los centros.

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

Método	Número	%
Comercial	227	92,0
Manual	8	3,2
Manual + comercial	6	2,4
Aglutinación	1	0,4
No informa	5	2,0
Total	247	100,0

Los sistemas comerciales utilizados se resumen en la tabla 3. Los más empleados fueron el Vitek/Vitek 2 (85 centros) y Microscan (79 centros), seguidos del Wider (34 centros) y las galerías API (25 centros). Los mejores resultados se obtuvieron con los sistemas Vitek /Vitek 2, Phoenix, Sensititre y BBL Crystal (100% de aciertos, si bien los tres últimos fueron usados por muy pocos centros, por lo que debe interpretarse con cautela), seguidos del Wider (97,1%) y Microscan (96,2%).

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

Método comercial	Número	% uso	% acierto
Vitek / Vitek 2	85	36,5	100,0
Microscan	79	33,9	96,2
Wider	34	14,6	97,1
Galerías API			
API 20 Strep	12	5,2	91,7
API Strep <sup>a</sup>	10	4,3	90,0
Rapid ID 32 Strep	3	1,3	66,7
Phoenix	6	2,6	100,0
Sensititre	2	0,8	100,0
BBL Crystal	1	0,4	100,0
RapID STR (Remel)	1	0,4	0,0
Total	233	100,0	96,6

<sup>a</sup>No especificaron el tipo de galería API de estreptococo empleada.

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

### GENERALIDADES

Para el análisis de las pruebas de sensibilidad se tuvo en cuenta a los 235 centros que realizaron la identificación de *E. faecium*. De ellos, solamente dos no realizaron el estudio de sensibilidad, con lo que se analizaron 233 estudios de sensibilidad. El número de participantes que determinó la CMI mediante una técnica automatizada de microdilución en caldo fue de 207 (88,9%), empleándose como método único en el 74,7% de los casos. Fueron 33 (14,1%) los centros que realizaron una técnica de difusión en disco-placa, de los que 17 (7,3%) lo hicieron de forma exclusiva. Un total de 24 laboratorios (10,3%) utilizó tiras de E-test®, de los cuales 2 (0,8%) lo hicieron como técnica única. Cuatro participantes no especificaron el método empleado (tabla 4).

**Tabla 4. Métodos empleados en el antibiograma.**

Método	Número	%
CMI por microdilución	174	74,7
CMI + E-test®	19	8,2
Disco-placa	17	7,3
CMI + disco-placa	11	4,7
CMI + disco-placa + E-test®	3	1,3
E-test®	2	0,8
Disco-placa + E-test®	2	0,8
Concentración crítica	1	0,5
No especificado	4	1,7
Total	233	100,0

Sobre un total de 207 respuestas, los equipos más utilizados para la realización del antibiograma mediante microdilución fueron los sistemas automatizados Vitek/Vitek 2 y Microscan (38,6% de uso en cada uno), seguidos del Wider (16,4%). Los datos se resumen en la tabla 5.

**Tabla 5. Marcas empleadas en el antibiograma.**

Marca	Número	%
Vitek/Vitek 2	80	38,6
Microscan	80	38,6
Wider	34	16,4
Phoenix	6	2,9
Sensititre (Izasa)	5	2,5
Preparación propia	1	0,5
No específica	1	0,5
Total	207	100,0

Los resultados de sensibilidad antibiótica suministrados por el centro que actuó como laboratorio de referencia (tabla 6) fueron obtenidos por diversos métodos: difusión en disco-placa, microdilución (Microscan) y E-test® y se muestran en la tabla 6. Como siempre, esta lista se incluye a título meramente informativo, como término de comparación para los participantes, sin que suponga una recomendación de uso en el tratamiento de las infecciones por esta bacteria. El laboratorio de referencia usó los criterios del CLSI correspondientes a la familia *Enterococcus* para la interpretación de los resultados.

**Tabla 6. Sensibilidad antibiótica de la cepa.**

Antibiótico	Interpretación <sup>a</sup>
Penicilina	R
Ampicilina/amoxicilina	R
Amoxicilina-clavulánico	R
Piperacilina-tazobactam	R
Imipenem	R
Levofloxacino	R
Ciprofloxacino	R
Cotrimoxazol	R
Quinupristina/dalfopristina	R
Gentamicina 500	S
Estreptomina 1000	R
Vancomicina	S
Teicoplanina	S
Linezolid	S
Daptomicina	S
Tigeciclina	S

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

Por otra parte, se solicitó a tres profesionales con experiencia un listado de los antibióticos que consideraran deberían ser incluidos en el estudio de sensibilidad de esta bacteria (tabla 7), sirviendo así como una aproximación o guía general. Desde el Programa de Control de Calidad, se considera que la adecuación de los antibióticos seleccionados por cada centro al caso clínico concreto es un criterio añadido de verdadera calidad en Microbiología Clínica. Como en otras ocasiones, estos profesionales basaron su selección en los siguientes criterios: a) tratarse de opciones terapéuticas de primera elección, b) constituir alternativas en ciertas situaciones clínicas, c) servir como criterio adicional para la identificación precisa de la especie bacteriana, marcador fenotípico, etc. y d) para conocer la epidemiología de la resistencia en un determinado ámbito geográfico.

**Tabla 7. Antibiograma ideal según tres profesionales.**

Experto 1	Experto 2	Experto 3
Penicilina	Penicilina	Penicilina
Ampicilina	Ampicilina	Ampicilina
	Amoxicilina-clavulánico	Amoxicilina-clavulánico
Daptomicina	Daptomicina	Daptomicina
Ciprofloxacino		
Estreptomina 1000	Estreptomina 1000	Estreptomina 1000
Gentamicina 500	Gentamicina 500	Gentamicina 500
Quinupristina-dalfopristina		Quinupristina-dalfopristina
Linezolid	Linezolid	Linezolid
Tigeciclina		
Teicoplanina	Teicoplanina	Teicoplanina
Vancomicina	Vancomicina	Vancomicina

Las respuestas de los laboratorios variaron desde aquéllos que refieren muy pocos antibióticos en sus pruebas de sensibilidad, a otros que estudian hasta 22 diferentes. Los antibióticos que fueron informados por un mayor número de participantes se ajustan bastante a las necesidades terapéuticas y al "patrón ideal" que se desprende de la opinión de dos o más de los expertos.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla 8 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad cuando el número de respuestas para un determinado antibiótico fue igual o superior a 35. En total, se han recibido resultados correspondientes a 41 antibióticos diferentes.

De forma mayoritaria, los participantes mostraron unos resultados concordantes con los aportados por el laboratorio de referencia para todos los antibióticos, observándose únicamente discrepancia con la rifamicina.

**Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antibióticos.**

Antibiótico	Número	Interpretación <sup>a</sup>			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Penicilina	118	0	0	118 (100,0)	0
Ampicilina	214	0	0	214 (100,0)	0
Imipenem	46	0	0	46 (100,0)	0
Ciprofloxacino	103	1 (1,0)	0	102 (99,0)	0
Levofloxacino	99	1 (1,0)	1 (1,0)	97 (98,0)	0
Eritromicina	95	0	0	95 (100,0)	0
Clindamicina	50	0	0	50 (100,0)	0
Gentamicina 500	172	163 (94,8)	0	9 (5,2)	0
Estreptomina 1000	130	4 (3,1)	0	126 (96,9)	0
Rifampicina	41	10 (24,4)	17 (41,5)	14 (34,1)	0
Quinupristina/dalfopristina	62	1 (1,6)	5 (8,1)	55 (88,7)	1 (1,6)
Vancomicina	231	227 (98,3)	1 (0,4)	3 (1,3)	0
Teicoplanina	165	165 (100,0)	0	0	0
Linezolid	172	167 (97,1)	3 (1,7)	2 (1,2)	0
Daptomicina	47	42 (89,4)	0	5 (10,6)	0
Tigeciclina	52	52 (100,0)	0	0	0

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antibiótico.

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Respecto a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de sensibilidad, se obtuvieron los siguientes datos: 232 laboratorios (94,0%) afirmaron no haberlo utilizado, 7 centros (2,8%) declararon haberlo requerido y 3 centros (1,2%) lo utilizaron parcialmente. Hubo 5 respuestas (2,0%) que no aportaron información al respecto.

## COMENTARIOS

El comentario más frecuente fue acerca de recomendaciones terapéuticas (en 45 centros), principalmente el tratamiento con gluco péptidos (principalmente vancomicina) asociado a la gentamicina; y como alternativas linezolid o daptomicina.

Algunos participantes comentaron el fenotipo de resistencia de la cepa (29 centros), remarcando la resistencia a  $\beta$ -lactámicos por alteración en las PBP5 y el patrón de resistencia a los aminoglucósidos (resistente a la estreptomina de alta carga y sensible a la gentamicina de alta carga). Además, 10 participantes señalaron explícitamente que la resistencia a quinupristina/dalfopristina en aislados de *E. faecium* era inusual.

Algunos centros comentaron que el cuadro clínico que presentaba la paciente se correspondía con una endocarditis tricuspídea (14 laboratorios). Por último, cinco centros informaron que la cepa no era productora de  $\beta$ -lactamasa.

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-2/09)

En el presente control se envió a los participantes un tubo con medio de Sabouraud que contenía un único hongo caracterizado por el laboratorio de referencia como *Epidermophyton floccosum*. La historia clínica correspondía a un paciente varón de 39 años de edad, sin antecedentes patológicos de interés, que acudió a consultas de Dermatología por presentar, desde hacía aproximadamente dos meses, unas lesiones eritematosas, descamativas y muy pruriginosas en ambas ingles, que se expandieron hasta la zona interna de los muslos. Inicialmente, las lesiones comenzaron como pápulas foliculares de crecimiento centrífugo que progresivamente evolucionaron hasta formar grandes placas de borde sobrelevado y eritematoso. Aunque en un primer momento las lesiones respondieron bien a una crema con corticoides, al cabo de pocas semanas comenzaron a empeorar. Se recogieron muestras de escamas de las lesiones y fueron remitidas al Laboratorio de Microbiología para estudio bacteriológico y micológico, obteniéndose crecimiento a los 7 días del hongo que fue objeto de este control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la identificación del hongo implicado en este cuadro clínico, así como que formularan los comentarios que consideraran oportunos.

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN MICOLÓGICA

La cepa problema fue enviada a 237 laboratorios participantes, de los que 212 remitieron hoja de respuesta. Así, el porcentaje de participación fue del 89,5%, similar al del último control de Micología (91,1%). Dos de los centros, no obtuvieron crecimiento de la cepa remitida, por lo que no pudieron identificarla, descontando a éstos el porcentaje real de participación fue del 88,6%.

Como se observa en la tabla 1, la mayoría de los participantes (91,0%) identificaron correctamente el género y la especie del hongo remitido. Entre los resultados discordantes, cabe destacar que trece laboratorios (6,1%) informaron la cepa remitida como perteneciente al género *Trichophyton*. El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó cómo

válida únicamente la identificación correcta de género y especie (*E. floccosum*). El laboratorio de referencia obtuvo la identificación mediante examen microscópico con azul de lactofenol y posterior secuenciación de la cepa.

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, no informaron de esta premisa 8 (3,8%) de los centros participantes. El resto, aunque aportaron en conjunto una amplia variabilidad de técnicas, en su gran mayoría, se basaron en las características macroscópicas y microscópicas, con o sin azul de lactofenol (tabla 2). Aunque no quede reflejado en la tabla, algunos participantes complementaron estos métodos con subcultivos en distintos medios, como los medios de Sabouraud y Taplin.

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

Identificación	Número	%
Epidermophyton floccosum	193	91,0
<i>Trichophyton tonsurans</i>	4	1,8
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	3	1,4
<i>Trichophyton verrucosum</i>	2	1,0
Género <i>Trichophyton</i>	2	1,0
Otros <sup>a</sup>	6	2,8
No se obtiene crecimiento	2	1,0
Total	212	100,0

<sup>a</sup>Identificaciones informadas por un único participante: género *Candida*, género *Microsporum*, *Histoplasma capsulatum*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton violaceum*.

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

Métodos	Número	%
Microscopía	70	33,3
Estudio microscópico con azul de lactofenol	45	21,4
Estudio macroscópico y microscópico	44	21,0
Estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	18	8,5
Examen en fresco	13	6,2
Estudio macro-microscópico con azul de metileno	3	1,4
Manual	3	1,4
Microcultivo (laminocultivo)	2	1,0
Estudio macro-microscópico + técnicas moleculares	1	0,5
Estudio microscópico con azul de Cotton	1	0,5
Microscopía + cultivo cromogénico	1	0,5
Microscopía + secuenciación	1	0,5
No informa	8	3,8
Total	210	100,0

En este control, como era de esperar, ningún centro realizó antifungigrama, debido a que esta técnica no está estandarizada para los hongos dermatofitos ni está indicado en micosis superficiales.

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa, se obtuvieron los siguiente datos: 193 (91,0%) centros comentan no utilizarlo, 7 (3,3%) afirman haberlo usado, tres de ellos parcialmente (1,4%). Fueron 12 los centros que no aportaron este dato (5,7%).

## COMENTARIOS

Entre los comentarios más habituales de los participantes se encuentran los que hacen referencia a la pauta terapéutica, aunque hubo bastante discrepancia en la vía de administración. Así, unos centros aconsejaron el tratamiento con terbinafina o imidazol tópicos, mientras que otros laboratorios prefirieron el tratamiento oral con terbinafina o itraconazol.

Algunos participantes comentan que se trata de un cuadro de tiña crural, clásicamente denominado "eccema marginado de Hebra", enmascarado por los corticoides que se le administraron (tiña incógnito). Otros de los comentarios hacen referencia a las características en el cultivo: colonias de color caqui, con abundantes macroconidias en forma de raqueta en ausencia de microconidias y otros a que actualmente la incidencia de *E. floccosum* es baja.

Por último, algunos centros manifestaron que no realizaban antifungigrama para hongos dermatofitos o que éste no estaba indicado en micosis superficiales.

## CONTROL DE CALIDAD DE SEROLOGÍA (S-4/09)

En el presente control se remitió a los laboratorios participantes una muestra de suero liofilizado que había sido analizado y valorado para la detección de anticuerpos frente al virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1) y tipo 2 (VHS-2), y frente a *Chlamydia trachomatis* por un centro de referencia con experiencia en el diagnóstico serológico, y cuyos resultados fueron los siguientes:

- **Anticuerpos IgG frente a los virus herpes simple tipos 1 y 2 (VHS 1+2) por IQL:** Positivo (Liason®, DiaSorin).
- **Anticuerpos IgM frente a los virus herpes simple tipos 1 y 2 (VHS 1+2) por IQL:** Negativo (Liason®, DiaSorin).
- **Anticuerpos IgG frente al virus herpes simple tipo 1 (VHS-1 IgG) mediante IQL:** Positivo (Liason®, DiaSorin).
- **Anticuerpos IgG frente al virus herpes simple tipo 2 (VHS-2 IgG) mediante IQL:** Negativo (Liason®, DiaSorin).
- **Anticuerpos IgM frente al virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1 IgM) mediante EIA:** Negativo (Siemens).
- **Anticuerpos IgM frente al virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2 IgM) mediante EIA:** Negativo (Siemens).
- **Anticuerpos IgG frente a *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis* IgG) mediante IF:** Negativo (Focus, Vitros).
- **Anticuerpos IgM frente a *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis* IgM) mediante IF:** Negativo (Focus, Vitros).

La muestra de suero pertenecía a un varón de 27 años de edad, con numerosos contactos sexuales, que acudió a la consulta de su médico de cabecera para una revisión general y como antecedentes relató haber tenido unas pequeñas lesiones en el prepucio. Las describía como “pequeñas ulceritas” muy dolorosas y recordaba que coincidieron con un cuadro de febrícula y malestar general. Dada la ausencia de lesiones en ese momento, el médico decidió realizar estudio serológico frente al VIH y *Treponema pallidum*, ambos con resultados negativos, y la determinación de anticuerpos frente a los virus herpes simple 1 y 2 y *Chlamydia trachomatis*. Se solicitó a los laboratorios participantes la detección de anticuerpos frente a VHS-1 y VHS-2 y *C. trachomatis* así como la formulación de sugerencias, comentarios e interpretación de los resultados obtenidos.

Se enviaron un total de 221 muestras de suero a los diferentes laboratorios, de los que 166 (75,1%) remitieron hoja de respuesta. Todos los centros, excepto 22, realizaron al menos una de las determinaciones solicitadas explícitamente en este control, por lo que el porcentaje de participación real fue del 65,2%, inferior al del último control de Serología (83,7%). Los veintidós participantes que no efectuaron ninguna de las determinaciones informaron que la serología frente al VHS y *C. trachomatis* se enviaba a su centro de referencia (16 de ellos), que realizaban el diagnóstico por PCR de muestra directa (2 centros), que se rompió el frasco con la muestra (1), que estas pruebas se hacían en Análisis Clínicos (1), y que los resultados estaban todavía pendientes en su centro de referencia (1). Por último, un laboratorio no informó ninguna de las seis pruebas de la hoja de respuesta, si bien realizó la determinación de anticuerpos totales (IgG + IgM) frente al VHS-1 y frente al VHS-2.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN CONJUNTA DE ANTICUERPOS IgG FRENTE AL VHS 1+2

De los 144 laboratorios que remitieron hoja de respuesta analizable, 81 (56,3%) realizaron la detección de anticuerpos anti-VHS 1+2 de tipo IgG. Del total de determinaciones efectuadas, 65 (80,3%) fueron positivas, resultado coincidente con el aportado por el laboratorio de referencia, 15 centros informaron un resultado negativo y el centro restante obtuvo un resultado indeterminado.

Los métodos más frecuentemente empleados fueron el enzimoimmunoensayo (EIA) -60,5%-, seguido de la inmunoquimioluminiscencia (IQL) -33,3%-. Un centro informó que había realizado inmunofluorescencia (IF) -1,2%-. Por último, cuatro participantes (5,0%) no informaron de esta premisa.

Por lo que respecta a los equipos comerciales empleados, existe una amplia variedad de éstos aunque destacan el Liaison® (DiaSorin), seguido del EIA de Vircell y de los sistemas de Siemens (principalmente Enzygnost®) como los más usados (tabla 1). En cuanto a los resultados discrepantes (19,7% del total de determinaciones informadas), se observa que todos se obtuvieron por técnicas de EIA, siendo la marca comercial más informada en estos casos Vircell. Así, de los 13 participantes que usaron los reactivos de Vircell, tan sólo un centro informó esta prueba como positiva (7,7%). Cabe destacar el 100,0% de aciertos que se obtuvo con el sistema Liaison® (DiaSorin) y el 92,9% de aciertos con los reactivos de Siemens (tan solo un resultado discrepante de 13). El resto de las marcas comerciales fueron utilizadas de forma ocasional, lo que no permite extraer conclusiones. Estos datos se detallan en la tabla 1.

**Tabla 1. Detección de anticuerpos de tipo IgG frente al VHS 1+2 según marca comercial utilizada.**

Marca	Positivo (% <sup>a</sup> )	Negativo (% <sup>a</sup> )	Indeterminado (% <sup>a</sup> )	Total
				Número (% <sup>b</sup> )
IQL (Liaison, DiaSorin)	24 (100,0)	–	–	24 (29,6)
EIA (Vircell)	1 (7,7)	11 (84,6)	1 (7,7)	13 (16,0)
EIA (DiaSorin)	8 (100,0)	–	–	8 (10,0)
EIA (Siemens)	6 (100,0)	–	–	6 (7,4)
EIA (Enzygnost, Siemens)	5 (100,0)	–	–	5 (6,2)
EIA (Inverness)	1 (50,0)	1 (50,0)	–	2 (2,5)
EIA (Serion)	2 (100,0)	–	–	2 (2,5)
IQL (Immulite, Siemens)	2 (100,0)	–	–	2 (2,5)
EIA (Abbott)	1 (100,0)	–	–	1 (1,2)
EIA (Chorus-Grifols)	1 (100,0)	–	–	1 (1,2)
EIA (Novagnost, Siemens)	–	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Palex)	1 (100,0)	–	–	1 (1,2)
IF (Viro-Inmun)	1 (100,0)	–	–	1 (1,2)
No informa	12 (85,7)	2 (14,3)	–	14 (17,3)
Total	65 (80,3)	15 (18,5)	1 (1,2)	81 (100,0)

<sup>a</sup>porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca.

<sup>b</sup>porcentaje respecto del total de determinaciones.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN CONJUNTA DE ANTICUERPOS IgM FRENTE AL VHS 1+2

Esta prueba fue realizada por 83 de los 144 laboratorios que enviaron hoja de respuesta con datos analizables (57,6%). Un total de 82 determinaciones (98,8%) se informaron como negativas, coincidiendo con el resultado aportado por el laboratorio de referencia, mientras que una fue dudosa/indeterminada (1,2%).

Por lo que respecta a los métodos empleados, destaca otra vez la utilización mayoritaria de las técnicas de EIA -61,0%-, seguidas de la IQL -32,5%-. Dos centros informaron que habían realizado inmunofluorescencia (IF) -2,4%-. Por último, hubo tres participantes (3,6%) que no informaron acerca de este dato. En cuanto a las marcas más empleadas, de nuevo destaca el Liaison® de DiaSorin, seguido del EIA de Vircell y de los sistemas de Siemens. La distribución de resultados y los equipos comerciales están señalados en la tabla 2.

**Tabla 2. Detección de anticuerpos de tipo IgM frente al VHS 1+2 según marca comercial utilizada.**

Marca	Negativo (% <sup>a</sup> )	Indeterminado (% <sup>a</sup> )	Total
			Número (% <sup>b</sup> )
IQL (Liaison, DiaSorin)	26 (100,0)	–	26 (31,3)
EIA (Vircell)	12 (92,3)	1 (7,7)	13 (15,7)
EIA (Siemens)	6 (100,0)	–	6 (7,3)
EIA (DiaSorin)	5 (100,0)	–	5 (6,0)
EIA (Enzygnost, Siemens)	5 (100,0)	–	5 (6,0)
EIA (Chorus-Grifols)	3 (100,0)	–	3 (3,6)
EIA (Biokit)	2 (100,0)	–	2 (2,4)
EIA (Abbott)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Adaltis)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Diesse)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Inverness)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Novagnost, Siemens)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Novatec)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Palex)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Radim)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Serion)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
IF (EuroInmun)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
IF (Viro-Inmun)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
No informa	12 (100,0)	–	12 (14,5)
Total	82 (98,8)	1 (1,2)	83 (100,0)

<sup>a</sup>porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca.

<sup>b</sup>porcentaje respecto del total de determinaciones.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE AL VIRUS VHS-1

Esta prueba fue realizada por 73 de los 144 laboratorios que enviaron hoja de respuesta con datos analizables (50,7%). Del total de determinaciones informadas, solamente 39 (53,4%) fueron positivas, coincidiendo con el resultado aportado por el laboratorio de referencia. Las interpretaciones discrepantes correspondieron a 28 centros (38,4%) que informaron un resultado negativo y 6 (8,2%) uno dudoso/indeterminado.

Por lo que respecta a los métodos empleados, las más utilizadas fueron de nuevo las pruebas de EIA -76,7%-, seguidas de la IQL -12,3%-, *immunoblot* (IB) -4,1%-, e IF -1,4%-. Un 5,5% no aportó esta información. En cuanto a los equipos comerciales empleados, esta vez hubo un predominio del EIA de Vircell, si bien solamente 1 de los 26 centros que informaron esta marca obtuvieron un resultado positivo, concordante con el laboratorio de referencia. La distribución de resultados según el sistema comercial usado se indica en la tabla 3.

**Tabla 3. Detección de anticuerpos de tipo IgG frente al VHS-1 según marca comercial utilizada.**

Marca	Positivo (% <sup>a</sup> )	Negativo (% <sup>a</sup> )	Indeterminado (% <sup>a</sup> )	Total
				Número (% <sup>b</sup> )
EIA (Vircell)	1 (3,9)	22 (84,6)	3 (11,5)	26 (35,6)
IQL (Liaison, DiaSorin)	5 (100,0)	–	–	5 (6,9)
EIA (Novagnost, Siemens)	1 (33,3)	1 (33,3)	1 (33,4)	3 (4,1)
EIA (Novatec)	3 (100,0)	–	–	3 (4,1)
EIA (Biokit)	1 (50,0)	1 (50,0)	–	2 (2,7)
EIA (Chorus-Grifols)	2 (100,0)	–	–	2 (2,7)
EIA (Diamedix)	2 (100,0)	–	–	2 (2,7)
EIA (Inverness)	1 (50,0)	1 (50,0)	–	2 (2,7)
EIA (Adaltis)	1 (100,0)	–	–	1 (1,4)
EIA (Diesse)	1 (100,0)	–	–	1 (1,4)
EIA (Serion)	–	–	1 (100,0)	1 (1,4)
EIA (Wampole)	1 (100,0)	–	–	1 (1,4)
IB (Focus)	1 (100,0)	–	–	1 (1,4)
IF (Viro-Inmun)	1 (100,0)	–	–	1 (1,4)
No informa	18 (81,8)	3 (13,6)	1 (4,6)	22 (30,1)
Total	39 (53,4)	28 (38,4)	6 (8,2)	73 (100,0)

<sup>a</sup> porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca.

<sup>b</sup> porcentaje respecto del total de determinaciones.

#### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE AL VIRUS VHS-2

Esta determinación fue realizada por 85 de los 144 laboratorios que enviaron hoja de respuesta con datos analizables (59,0%). Del total de determinaciones analizadas, en 83 se informó un resultado negativo (97,7%), concordante con el aportado por el centro de referencia, y en 2, un resultado positivo (2,3%).

En cuanto a los métodos usados, de nuevo hay que destacar la utilización preponderante de las pruebas de EIA (76,5%), seguida de la IQL (11,8%), IB (3,5%) e IF (1,2%). Un 7,1% de los participantes no informaron del mismo. Los resultados según la marca comercial usada se detallan en la tabla 4.

**Tabla 4. Detección de anticuerpos de tipo IgG frente al VHS-2 según marca comercial utilizada.**

Marca	Negativo (% <sup>a</sup> )	Positivo (% <sup>a</sup> )	Total
			Número (% <sup>b</sup> )
EIA (Vircell)	34 (100,0)	–	34 (40,0)
IQL (Liaison, DiaSorin)	6 (100,0)	–	6 (7,0)
EIA (DiaSorin)	4 (80,0)	1 (20,0)	5 (5,9)
EIA (Novagnost, Siemens)	3 (100,0)	–	3 (3,5)
EIA (Novatec)	3 (100,0)	–	3 (3,5)
EIA (Diamedix)	2 (100,0)	–	2 (2,3)
EIA (Chorus-Grifols)	2 (100,0)	–	2 (2,3)
EIA (Adaltis)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Biokit)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Diesse)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Inverness)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
EIA (Wampole)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
IB (Focus)	1 (100,0)	–	1 (1,2)
IF (Viro-Inmun)	–	1 (100,0)	1 (1,2)
No informa	23 (100,0)	–	23 (27,1)
Total	83 (97,7)	2 (2,3)	85 (100,0)

<sup>a</sup> porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca.

<sup>b</sup> porcentaje respecto del total de determinaciones.

#### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DE TIPO IgM FRENTE AL VHS-1

La prueba de detección de anticuerpos de tipo IgM frente al VHS-1, a pesar de no ser una de las pruebas solicitadas, fue realizada por 31 (21,5%) de los 144 laboratorios que emitieron hoja de respuesta valorable. Todos ellos obtuvieron un resultado negativo, coincidente con el laboratorio de referencia. En cuanto a los métodos empleados,



destaca la técnica de EIA usada por 28 de los 29 centros que informan esta premisa (96,6%). Consecuentemente, el sistema automatizado más usado fue el EIA de Vircell (61,0%)

#### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DE TIPO IgM FRENTE AL VHS-2

La prueba de detección de anticuerpos de tipo IgM frente al VHS-2, a pesar de no ser tampoco una de las pruebas solicitadas, fue realizada por 28 (19,4%) de los 144 laboratorios que emitieron hoja de respuesta con datos valorables. Todos ellos obtuvieron un resultado negativo coincidente con el laboratorio de referencia. El método más utilizado, como en las determinaciones anteriores, fue el EIA, informado por todos los 26 participantes (100,0%) que efectuaron esta prueba. En cuanto a los equipos comerciales, destaca otra vez el EIA de Vircell, utilizado por 14 de los 20 laboratorios (70,0%) que informaron este dato.

#### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DE TIPO IgG FRENTE A *C. trachomatis*

La prueba de detección de anticuerpos de tipo IgG frente a *Chlamydia trachomatis* fue realizada por 108 de los 144 laboratorios que enviaron hoja de respuesta con datos analizables (75,0%). Del total de determinaciones informadas, 90 (83,4%) fueron negativas, coincidiendo con el resultado aportado por el laboratorio de referencia. Las interpretaciones discrepantes correspondieron a 14 centros (12,9%) que informaron un resultado positivo/positivo débil y a 4 (3,7%) que no interpretaron el título obtenido en la IF.

Por lo que respecta a los métodos empleados, esta vez la más utilizada fue la IF (63,0%) seguida del EIA (34,2%). Un 2,8% no informó de este dato. En cuanto a la marca comercial empleada, hay un predominio de los reactivos de Vircell (tanto para IF como para EIA), junto con las IF de Focus y Savyon. La distribución de resultados y los equipos comerciales están señalados en la tabla 5.

**Tabla 5. Detección de anticuerpos de tipo IgG frente *C. trachomatis* según marca comercial utilizada.**

Marca	Negativo (% <sup>a</sup> )	Positivo (% <sup>a</sup> )	Positivo débil (% <sup>a</sup> )	No interpretan (% <sup>a</sup> )	Total Número (% <sup>b</sup> )
IF (Vircell)	14 (82,3)	2 (11,8)	–	1 (5,9)	17 (15,8)
EIA (Vircell)	15 (93,8)	1 (6,2)	–	–	16 (14,8)
IF (Focus, Vitro)	10 (83,3)	2 (16,7)	–	–	12 (11,1)
IF (Savyon)	9 (75,0)	1 (8,3)	1 (8,3)	1 (8,4)	12 (11,1)
EIA (Euroimmun)	10 (100,0)	–	–	–	10 (9,4)
EIA (Novatec)	2 (100,0)	–	–	–	2 (1,8)
IF (Euroimmun)	2 (100,0)	–	–	–	2 (1,8)
IF (Hemagen, Virgo)	–	2 (100,0)	–	–	2 (1,8)
EIA (Chorus-Grifols)	–	1 (100,0)	–	–	1 (0,9)
EIA (DiaSorin)	1 (100,0)	–	–	–	1 (0,9)
EIA (Inverness)	1 (100,0)	–	–	–	1 (0,9)
IF (AnilabSystems)	1 (100,0)	–	–	–	1 (0,9)
IF (MRL)	1 (100,0)	–	–	–	1 (0,9)
IF (Viro-Inmun)	–	1 (100,0)	–	–	1 (0,9)
No informa	24 (82,8)	3 (10,3)	–	2 (6,9)	29 (27,0)
Total	90 (83,4)	13 (12,0)	1 (0,9)	4 (3,7)	108 (100,0)

<sup>a</sup>porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca.

<sup>b</sup>porcentaje respecto del total de determinaciones.

#### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DE TIPO IgM FRENTE A *C. trachomatis*

La detección de anticuerpos de tipo IgM frente a *Chlamydia trachomatis* fue informada solamente por 61 de los 144 laboratorios que remitieron hoja de respuesta con datos analizables (42,4%). Del total de determinaciones efectuadas, 60 (98,4%) fueron negativas, coincidiendo con el resultado aportado por el laboratorio de referencia, mientras que únicamente una se informó como positiva (1,6%).

Por lo que respecta a los métodos empleados, al igual que sucedía con la prueba anterior, la más utilizada fue la IF (55,7%) seguida del EIA (37,7%). Un 6,6% no informó de este dato. En cuanto a la marca comercial empleada, de nuevo hay un predominio de los reactivos de Vircell (tanto EIA como IF), junto con la IF de Savyon. La distribución de resultados según el equipo comercial utilizado está especificada en la tabla 6.

**Tabla 6. Detección de anticuerpos tipo IgM frente *C. trachomatis* según marca comercial utilizada.**

Marca	Negativo (% <sup>a</sup> )	Positivo (% <sup>a</sup> )	Total Número (% <sup>b</sup> )
EIA (Vircell)	14 (100,0)	–	14 (23,0)
IF (Savyon)	9 (100,0)	–	9 (14,8)
IF (Vircell)	7 (87,5)	1 (12,5)	8 (13,2)
IF (Focus, Vitro)	5 (100,0)	–	5 (8,2)
EIA (Chorus-Grifols)	1 (100,0)	–	1 (1,6)
EIA (DiaSorin)	1 (100,0)	–	1 (1,6)
EIA (Inverness)	1 (100,0)	–	1 (1,6)
EIA (Novatec)	1 (100,0)	–	1 (1,6)
IF (Viro-Inmun)	1 (100,0)	–	1 (1,6)
No informa	20 (100,0)	–	20 (32,8)
Total	60 (98,4)	1 (1,6)	61 (100,0)

<sup>a</sup>porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca.

<sup>b</sup>porcentaje respecto del total de determinaciones.

## USO DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que se refiere a la utilización del laboratorio externo, de los 144 participantes que enviaron hoja de respuesta con datos analizables, 90 (62,5%) señalaron que no lo utilizaban, mientras que 53 (36,8%) afirmaron requerirlo, 19 de ellos sólo parcialmente, porcentaje mayor al de otras ocasiones. Únicamente un laboratorio (0,7%) no aportó información alguna sobre este dato.

## COMENTARIOS

La mayoría de los comentarios realizados por los participantes se refieren a que no realizaban la serología de herpes y/o de *C. trachomatis* en sus laboratorios. Algunos de ellos informan además que cuando reciben estas peticiones las remiten a su centro de referencia. Otros mencionan que el diagnóstico de estos microorganismos se hacía mediante PCR (mayoritariamente a tiempo real), antígeno ó cultivo celular en muestra directa, y que la serología no era de utilidad en estos casos.

Bastantes participantes recomendaron la recogida de una nueva muestra de suero en 2-3 semanas y repetir las serologías en paralelo junto con la muestra actual. Otros participantes mencionaron que el paciente no presentaba una infección actual por herpes, o bien, que el paciente tenía un herpes genital por VHS-1.

Algún laboratorio, en el que todas las determinaciones que realizaron fueron negativas, sugería que la muestra de suero podría haber llegado en mal estado. Desde el control de calidad SEIMC se hace de nuevo hincapié en que es imprescindible procesar la muestra siguiendo las instrucciones aportadas en la historia clínica adjunta.

## CONTROL DE CALIDAD DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR (BM-1/09)

En el presente control, se envió a los distintos laboratorios participantes una muestra de LCR de un paciente varón de 31 años de edad, ex-adicto a drogas por vía parenteral y seropositivo para VIH, que acudió al hospital por presentar desde hacía dos semanas un cuadro de febrícula vespertina, astenia y pérdida de apetito, que en los últimos tres días se acompañó de cierta desorientación témporo-espacial y cefalea leve. Se decidió su ingreso, dado el deterioro del estado general y aunque inicialmente no presentó signos de focalidad neurológica, el paciente comenzó a empeorar, y presentó paresia de nervios oculares, cefalea intensa y letargo. Se obtuvo una muestra de LCR que fue remitida a los servicios de Bioquímica (meningitis linfocitaria) y Microbiología para estudio bacteriológico, detección de antígeno de criptococo (que resultó negativo) y cultivo de hongos y micobacterias, así como determinación de virus y *Mycobacterium tuberculosis* por técnicas de Microbiología molecular. Se solicitó a los participantes que procesaran la muestra de LCR para la detección de **genoma de micobacterias** mediante PCR, así como que formularan los comentarios que considerasen oportunos.

El laboratorio que actuó como centro de referencia informó la detección de genoma para el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), mediante la realización de PCR *real-time* con dos equipos de la marca comercial Cepheid (SmartCycler® y GenXpert®).

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE GENOMA DE MTBC

La muestra de LCR fue enviada a 87 laboratorios de los que 67 remitieron hoja de respuesta (77,0 %). De ellos, tres centros informaron que en su laboratorio no se realiza esta determinación, por lo que en realidad fueron 64 los centros que aportaron resultados valorables, siendo el porcentaje de participación real del 73,6%, superior al del control anterior del 2007 (66,3%). Para esta prueba, se analizaron un total de 68 resultados, ya que tres participantes informaron varias determinaciones de la muestra por diferente método.

En total, la detección resultó positiva a MTBC en 53 casos (77,9% de las determinaciones efectuadas). Sin embargo, en el resto de los casos (22,1%) se informó un resultado negativo, discordante con el laboratorio de referencia. El método mayoritariamente empleado fue la PCR *real-time* y, dentro de este grupo, los equipos GeneXpert de Cepheid (11,8% de los participantes que realizaron la prueba) y COBAS *Taqman* de Roche (11,8% de los mismos), con el que se obtuvo un porcentaje de aciertos superior (85,7%) al primero (62,5%), lo que podría explicarse en parte por el mayor volumen de muestra ideal que se requiere en el equipo de Cepheid. Un porcentaje importante de centros emplearon equipos comerciales basados en métodos estandarizados para la extracción, amplificación y detección del genoma de la micobacteria con buenos resultados. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 1.

**Tabla 1. Métodos y marcas utilizados en la detección de genoma de MTBC.**

Método <sup>a</sup>	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)
PCR	GenoType MTBDR <i>plus</i> (Hain Lifescience)	5 (7,4)	4 (80,0)
	INNO-LiPA <i>Mycobacteria</i> v2 (Innogenetics)	3 (4,4)	2 (66,7)
	Desarrollo propio	3 (4,4)	1 (33,3)
	Roche	2 (2,9)	2 (100)
	No informada	1 (1,5)	1 (100)
PCR <i>real-time</i>	GeneXpert (Cepheid)	8 (11,8)	5 (62,5)
	COBAS <i>Taqman</i> (Roche)	8 (11,8)	7 (85,7)
	Ingenie Molecular (SmartCycler)	6 (8,8)	6 (100)
	Roche	5 (7,4)	5 (100)
	Abbott	2 (2,9)	2 (100)
	Patho Finder	2 (2,9)	2 (100)
	Eligene (Elisabeth Pharmacon)	1 (1,5)	1 (100)
	No informada	4 (5,9)	4 (100)
	NASBA	GenoType <i>Mycobacteria</i> Direct (Hain Lifescience)	7 (10,3)
SDA	ProbeTec (BD)	5 (7,4)	3 (60,0)
TMA	Gen-Probe (bioMérieux)	2 (2,9)	2 (100)
Secuenciación	Desarrollo propio	1 (1,5)	1 (100)
No informa	No informada	3 (4,4)	1 (33,3)
Total		68 (100,0)	53 (77,9)

<sup>a</sup>Abreviaturas: TMA: amplificación mediada por transcripción; SDA: amplificación por desplazamiento de cadenas; NASBA: amplificación basada en la secuencia de ácidos nucleicos.

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo de referencia para la realización de la prueba solicitada, de los 64 centros que realizaron esta técnica, 54 (84,3%) afirmaron no haberlo utilizado, mientras que 7 laboratorios indicaron que sí lo habían utilizado (11,0%). Hubo 3 participantes (4,7%) que no aportaron información al respecto.

## COMENTARIOS

El comentario más frecuente fue acerca de recomendaciones terapéuticas (en 45 centros), principalmente el tratamiento con glucopéptidos (principalmente vancomicina) asociado a la gentamicina; y como alternativas linezolid o daptomicina.

Algunos participantes comentaron el fenotipo de resistencia de la cepa (29 centros), remarcando la resistencia a  $\beta$ -lactámicos por alteración en las PBP5 y el patrón de resistencia a los aminoglucósidos (resistente a la estreptomina de alta carga y sensible a la gentamicina de alta carga). Además, 10 participantes señalaron explícitamente que la resistencia a quinupristina/dalfopristina en aislados de *E. faecium* era inusual.

Algunos centros comentaron que el cuadro clínico que presentaba la paciente se correspondía con una endocarditis tricuspídea (14 laboratorios). Por último, cinco centros informaron que la cepa no era productora de  $\beta$ -lactamasa.