

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR CONTROL BM-2/18

En el Análisis de Resultados del presente control se comentan los resultados obtenidos en el estudio molecular de la muestra enviada para control externo. El **material biológico** utilizado en este control había sido **cedido** por **Vircell MICROBIOLOGISTS**. Dicho material se almacenó debidamente y su estudio fue realizado por los laboratorios externos expertos que actuaron de referencia para el Programa CCS. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de las muestras mediante ensayos realizados tras su preparación y tras su envío, asegurando así la validez de las mismas.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, que emplearon métodos con sensibilidad y especificidad adecuadas para cada determinación. Estos laboratorios expertos colaboran con el Programa CCS mediante la firma de acuerdos.

El presente Análisis de Resultados han sido elaborados por especialistas en Microbiología y Parasitología.

La confidencialidad de todos los resultados está asegurada a través de la firma de Compromisos de Confidencialidad por parte de todo el personal del Programa CCS y de sus colaboradores.

INTRODUCCIÓN

Se envió una alícuota liofilizada de heces, que se acompañaba de una historia clínica que correspondía a la de una paciente de 62 años, natural de Wisconsin. Entre sus antecedentes personales destacaban una hipertensión arterial, fibrilación auricular en tratamiento y diabetes mellitus. Ingresó en el hospital para exéresis de tumor de ovario. A las 24 horas de la intervención presentó un episodio de sudoración y escalofríos acompañado de pico febril por lo que se administró antibiótico de amplio espectro que hizo disminuir la fiebre. Tras 5 días de tratamiento antibiótico, inició un cuadro de náuseas, vómitos y diarrea. Además, en la analítica ordinaria destacaba una leucocitosis de 19.800/mm³ con un recuento diferencial de neutrófilos del 85% y la presencia de sangre oculta en heces. Se recogió una muestra de heces que fue remitida al Servicio de Microbiología para la determinación de toxina de *Clostridium difficile* y que fue el objeto del presente control

Se solicitó a los participantes la **detección del genoma de *Clostridium difficile*** (producción de toxina) mediante PCR, así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos.

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia fue el de detección positiva del genoma de la toxina B (tcdB) de *C. difficile*, detección del genoma de la toxina binaria positiva, detección ribotipo hipervirulento 027 positiva. Estos dos resultados se obtuvieron mediante una PCR múltiple a tiempo real.

PARTICIPACIÓN

Se enviaron 91 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área, de los que 82 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación real del 90,1%, claramente superior al del último control de Microbiología molecular (33,0%), en el que se remitió una alícuota liofilizada para la detección del genoma de *Dientamoeba fragilis*.

DETECCIÓN DEL GENOMA DE TOXINA DE *Clostridium difficile*

La detección del genoma de la toxina de *C. difficile* fue realizada por el 100,0% de los centros que emitieron respuestas. Hubo tres participantes que efectuaron esta prueba con dos sistemas comerciales diferentes, por lo que se analizan 85 determinaciones. Todas ellas excepto dos (83, el 97,6%) fueron positivas, coincidiendo con el valor asignado. Los resultados discrepantes correspondieron a un centro (1,2%) que informó un resultado indeterminado y a otro centro (1,2%) que aportó un resultado negativo.

En cuanto a los métodos utilizados en la detección de toxina de *C. difficile*, hubo un claro predominio de la PCR a tiempo real, en 74 de las determinaciones informadas (87,1%), seguida de la amplificación isotérmica (9,4%). Respecto a las marcas más empleadas, destaca la utilización del equipo GenXpert® de Cepheid. La totalidad de las marcas informadas se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Detección de toxina de *Clostridium difficile* según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Positivo (% ^a)	Indeterminado (% ^a)	Negativo (% ^a)	Total
					Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	Xpert® (Cepheid)	48 (98,0)	1 (2,0)	–	49 (57,6)
	GenomEra® (Abacus D.)	13 (92,9)	–	1 (7,1)	14 (16,4)
	BD MAX™	7 (100,0)	–	–	7 (8,2)
	cobas® Liat® (Roche)	1 (100,0)	–	–	1 (1,2)
	Seeplex® (Seegene)	1 (100,0)	–	–	1 (1,2)
	Simplexa™ (Focus)	1 (100,0)	–	–	1 (1,2)
	No informa	1 (100,0)	–	–	1 (1,2)
Amplificación isotérmica	illumigene® (Meridian)	6 (100,0)	–	–	6 (7,0)
	Orion GenRead®	2 (100,0)	–	–	2 (2,4)
PCR	Desarrollo propio	2 (100,0)	–	–	2 (2,4)
<i>Microarray</i>	FilmArray®	1 (100,0)	–	–	1 (1,2)
Total ^b	–	83 (97,6)	1 (1,2)	1 (1,2)	85 (100,0)

^aPorcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. ^bPorcentaje respecto del total de determinaciones. Abreviaturas: PCR, reacción en cadena de la polimerasa.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

De las 82 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 81 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 98,8%; mientras que el laboratorio restante indicó que sí lo utilizó (1,2%).

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

La mayoría de los comentarios (38 centros) se referían a que se había detectado el gen de la toxina binaria, y que podría tratarse de un ribotipo 027.

Madrid, 15 de abril de 2019



C/ Agustín de Betancourt, 13
Entrepantana - 28003 Madrid
NIF: G-78387057



Concepción Gimeno Cardona
Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC

Nota: Todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar no son objeto de evaluación por parte del Programa CCS.

Nota: si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.

Nota: las actividades subcontratadas por el Programa CCS son el transporte de las muestras, el valor asignado, y los estudios de homogeneidad y estabilidad. Si en un determinado momento, se necesita subcontratar otras actividades diferentes a las indicadas se informará debidamente.