

CONTROL DE CALIDAD DE BIOLOGÍA MOLECULAR (BM-1/04)

En el presente control se envió a los distintos laboratorios participantes un tubo que contenía una muestra de lavado broncoalveolar en el que el laboratorio de referencia detectó la presencia de genoma de *Mycobacterium kansasii*. Dicha muestra se acompañaba de una historia clínica que correspondía a un varón de 71 años de edad, ex-fumador y broncópata crónico, que acudió a urgencias remitido por su médico, dado el deterioro de su estado general tras presentar un cuadro de tos escasamente productiva, astenia, anorexia, pérdida de peso y fiebre de 37,5°C de un mes de evolución. La radiografía de tórax mostró un infiltrado en lóbulo superior izquierdo y se decidió su ingreso hospitalario.

Además de los análisis pertinentes, se tomaron tres muestras de esputo que fueron remitidas al laboratorio de Microbiología para estudio bacteriológico y de micobacterias. El cultivo bacteriológico y las baciloscopias directas fueron negativas, por lo que ante la evidencia del cuadro clínico y la escasa productividad de la expectoración, se envió una muestra de lavado broncoalveolar para la realización de una PCR de micobacterias. Al cabo de 15 días crecieron unas colonias de bacilos ácido-alcohol resistentes (con la tinción de Ziehl-Neelsen) en los tubos de Lowestein-Jensen sembrados con las primeras muestras.

Se solicitó a los participantes el procesamiento de la muestra y la detección cualitativa de DNA de micobacterias, así como que formularan los comentarios que consideraran oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE DNA

La muestra problema fue enviada a 71 laboratorios, de los cuales 47 (66,2%) remitieron hoja de respuesta. De ellos, cuatro participantes no realizaron ningún tipo de prueba, por lo que, en realidad, fueron 43 los centros que aportaron hojas de respuesta con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación real del 60,6%, inferior al de anteriores controles. Se aceptaron como válidas todas aquellas respuestas que realizaron una detección genérica de DNA micobacteriano con resultado positivo, o aquéllas en las que la detección específica de DNA de *M. kansasii* fue positiva. Igualmente válidos se consideraron aquellos resultados negativos para la detección de genoma de *Mycobacterium tuberculosis*.

De las 43 respuestas analizadas, fueron 32 (74,4%) los centros que realizaron la detección de DNA de *M. tuberculosis*, aportando en 29 casos (90,6%) un resultado negativo coincidente con el laboratorio de referencia; en dos ocasiones (6,3%) se informó un resultado positivo discrepante, y en una un resultado indeterminado (3,1%). Estos datos quedan reflejados en la figura 1.

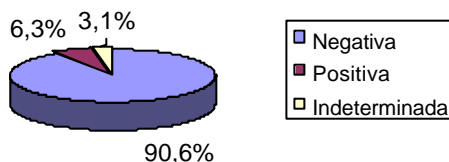


Figura 1. Resultados de detección de genoma de *M. tuberculosis*

En cuanto a los métodos empleados, la PCR fue la técnica más usada, tanto mediante sistemas automatizados como de desarrollo propio. Le siguió en frecuencia una miscelánea de métodos comerciales de amplificación. En la tabla 1 se muestran los métodos y marcas empleados.

Tabla 1. Métodos y marcas utilizados en la detección del DNA de *M. tuberculosis*.

Método	Marca	Número
PCR	Amplicor® Roche	7
	Desarrollo propio	5
	No informada	4
	TBfast® PharmaGen	1
TMA ^a	Gen-Probe (bioMérieux)	7
SDA ^b	ProbeTec® (Becton-Dickinson)	6
Sonda	AccuProbe®(bioMérieux)	1
Hibridación	DiaSorin	1

^aTMA: *transcription mediated amplification*.

^bSDA: *strand displacement amplification*.

Por lo que se refiere a los equipos comerciales empleados, destacan los sistemas automatizados de Roche (21,9%), bioMérieux (21,9%) y Becton-Dickinson (18,8%). Los dos resultados falsamente positivos se produjeron con un método de PCR de desarrollo propio. Cabe destacar el considerable porcentaje de participantes que no informan de la marca comercial empleada para realizar la PCR y que se corresponden con aquellos que remiten la muestra a un laboratorio externo de referencia. Estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados de la detección de DNA de *M. tuberculosis* según marca comercial.

Marca	Negativo	Positivo	Indeterminado	Total	
				Número	%
Amplicor® Roche	7	–	–	7	21,9
Gen-Probe (bioMérieux)	6	–	1	7	21,9
ProbeTec® (Becton Dickinson)	6	–	–	6	18,8
PCR desarrollo propio	3	2	–	5	15,6
No informa	4	–	–	4	12,5
TBfast® PharmaGen	1	–	–	1	3,1
DiaSorin	1	–	–	1	3,1
AccuProbe® bioMérieux	1	–	–	1	3,1
Total	29	2	1	32	100,0

Por otra parte, fueron trece laboratorios (30,2%) de los 43 que enviaron respuestas válidas los que realizaron la detección de DNA del género *Mycobacterium*, informándose once resultados positivos (84,6%) y dos negativos (15,4%) por lo tanto discrepantes. De los once positivos, ocho centros realizaron también una detección de *M. tuberculosis* mediante PCR (tres de desarrollo propio, dos mediante Amplicor® Roche y tres sin informar marca) que resultó negativa en todos los casos. Además, uno de los centros realizó por hibridación una detección de genoma de *M. kansasii* que fue informada como positiva.

Tabla 3. Resultados según marca comercial empleada en la detección de DNA del género *Mycobacterium*.

Marca	Positivo	Negativo	Total	
			Número	%
Amplicor® Roche	4	-	4	30,8
PCR desarrollo propio	4	-	4	30,8
No informa	3	2	5	38,4
Total	11	2	13	100,0

Finalmente, ocho centros de los 43 que enviaron hojas de respuesta válidas, realizaron la detección de DNA de *M. kansasii*, obteniéndose en siete casos (87,5%) un resultado positivo, coincidente con el del laboratorio de referencia. Todos ellos emplearon técnicas de hibridación desarrolladas para la identificación micobacteriana a partir de cultivos, excepto uno que no informó método ni marca. De estos ocho participantes, sólo dos realizaron también la detección de DNA de *M. tuberculosis*, uno mediante una PCR de desarrollo propio y otro mediante el sistema ProbeTec® (Becton Dickinson), en ambos casos con resultado negativo. Los resultados se muestran en la tabla 4. Desde el Control de Calidad se pretende resaltar que, aunque la identificación a la que llegaron algunos laboratorios al informar como negativa la presencia de DNA del complejo *M. tuberculosis*, tal vez sea insuficiente, al menos en los laboratorios de tercer nivel. Dado que en éstos es posible recibir muestras para diagnóstico que no son susceptibles para cultivo, sería deseable que dispusieran de cebadores capaces de detectar la presencia de otras micobacterias distintas de las del complejo antes mencionado, al menos de las micobacterias atípicas más frecuentes, como *M. kansasii*,

Tabla 4. Resultados según marca comercial empleada en la detección de DNA de *M. kansasii*.

Marca	Positivo	Negativo	Total	
			Número	%
INNOLiPA® Innogenetics	4	-	4	50,0
No informa	2	-	2	25,0
AccuProbe® bioMérieux	1	-	1	12,5
Genotype <i>Mycobacterium</i>	-	1	1	12,5
Total	7	1	8	100,0

USO DE LABORATORIO EXTERNO Y CAPACITACIÓN TÉCNICA

Por lo que se refiere a la utilización del laboratorio externo, de los 43 participantes que enviaron hoja de respuesta con resultados válidos, 34 (79,0%) señalaron que no lo utilizaban, seis centros (14,0%) afirmaron requerirlo y tres participantes (7,0%) no aportaron información alguna sobre este aspecto.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control se analizaron sólo seis hojas de respuesta de participantes con comentarios: cuatro indican que se trata de *M. kansasii* del grupo I, otro que detectaba DNA del género *Mycobacterium* y otro que no logró amplificar la muestra. Ninguno de los participantes hizo ningún tipo de comentario acerca de aspectos clínicos o terapéuticos del caso clínico remitido con la muestra.