

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-2/05)

En el presente control se envió a los distintos participantes dos portaobjetos con una impronta de pulmón, procedente de la necropsia del paciente al que se refería el caso clínico acompañante. El laboratorio de referencia informó la presencia de numerosos quistes y trofozoítos de *Pneumocystis jiroveci*. La historia clínica correspondía a un paciente varón de 35 años de edad, usuario de drogas por vía parenteral y diagnosticado de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) hacía más de 9 años, que acudió al servicio de Urgencias por presentar un cuadro de disnea progresiva de tres semanas de evolución, con tos no productiva, fiebre de 38°C, dolor en el hemitórax izquierdo e importante deterioro del estado general e inmunitario (32 linfocitos CD4/mm<sup>3</sup>), este último dato confirmado posteriormente a partir del análisis practicado desde el área de urgencias. El paciente no acudía a la consulta de la unidad de enfermedades infecciosas de forma regular y, aunque en varias ocasiones se le había prescrito tratamiento antirretroviral y profilaxis con cotrimoxazol, el paciente los abandonaba o no los tomaba con regularidad. En la radiografía simple de tórax se observó un infiltrado pulmonar bilateral difuso, de predominio en las bases, y un neumotórax en el pulmón izquierdo. Se decidió su ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos, desde donde se remitieron muestras para estudio bacteriológico, micológico, virológico y de micobacterias. La evolución fue mala y, a pesar del tratamiento empírico, el paciente falleció. En los cultivos realizados a partir de material de la necropsia, no se aisló ningún microorganismo que justificase el desenlace fatal y el diagnóstico microbiológico se estableció tras el estudio microscópico de la impronta pulmonar.

Se solicitó a los participantes la identificación del hongo implicado en este cuadro clínico, así como la formulación de aquellos comentarios que considerasen oportunos.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

La muestra fue enviada a 238 laboratorios, de los cuales 196 centros remitieron hoja de respuesta, aportando todos ellos resultados analizables, por lo que el porcentaje de participación fue del 82,4%, inferior al de controles anteriores. Se aceptaron como válidas para el análisis de los resultados las respuestas con la identificación de género y especie (Género *Pneumocystis* y *Pneumocystis jiroveci/carinii*), por lo que el porcentaje de aciertos fue del 88,8% (174 respuestas). Como se puede observar en la tabla 1, fueron 14 (7,1%) los centros que informaron no haber podido realizar la identificación del hongo objeto del control; de ellos, seis participantes comentaron que se trataba de una historia clínica compatible con *Pneumocystis jiroveci*, uno exponía abiertamente que se trataba de una muestra negativa para este hongo, otro informaba que no pudo llegar a la identificación por rotura del material y un tercer laboratorio informaba que no disponía de reactivos especiales a pesar de que realizó una tinción de Giemsa; fueron cuatro de estos 14 participantes, los que no hicieron comentarios al respecto, y uno indicó que, por ser laboratorio de referencia, no realizaba este tipo de determinaciones. El resto de centros informaron diversos géneros de hongos, sin ninguna relación con el que era objeto del control.

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

Identificación	Número	Porcentaje
<i>Pneumocystis jiroveci</i>	116	59,2
<i>Pneumocystis carinii</i>	51	26,0
No identificado	14	7,1
Género <i>Pneumocystis</i>	7	3,6
<i>Histoplasma capsulatum</i>	3	1,5
Género <i>Aspergillus</i>	2	1,0
Mucoral	1	0,5
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1	0,5
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	1	0,5
Total	196	100,0

Con respecto a los métodos utilizados para realizar la identificación, la tinción de Giemsa y las tinciones argénticas fueron las técnicas de uso mayoritario, empleadas de forma exclusiva por el 25,5% y el 17,9% de los participantes respectivamente, y en combinación con otras técnicas por el 10,8% de los centros en el caso de la tinción de Giemsa y por el 4,6% en el caso de las tinciones argénticas. El 8,7% de los participantes combinaron ambos métodos para realizar la identificación. También cabe destacar, el elevado porcentaje de centros que emplearon una técnica de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales, de forma exclusiva en el 10,7% de los casos o en combinación con otros métodos (10,8% de los participantes); cabe destacar, en este sentido, que de los centros que emplearon únicamente la inmunofluorescencia, tan sólo uno no fue capaz de identificar el hongo objeto del control. Finalmente, fueron nueve laboratorios (4,6%) los que no aportaron información sobre el método empleado. El resto de los datos, quedan resumidos en la tabla 2.

En cuanto a los elementos morfológicos utilizados para la identificación del patógeno, de los 196 participantes que remitieron hoja de respuesta, fueron trece (6,6%) los que aportaron información adicional sobre las formas observadas en el estudio microscópico de la muestra. Como queda reflejado en la tabla 3, todos estos centros informan acerca de la presencia de elementos quísticos, y algunos, además, especifican que observan esporozoítos incluidos en dichos quistes o libres, y trofozoítos.

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

Método	Número	Porcentaje
Tinción de Giemsa	50	25,5
Tinciones argénticas <sup>a</sup>	35	17,9
Inmunofluorescencia	21	10,7
Tinción de Giemsa + tinción argéntica	17	8,7
Tinción con azul de toluidina O	15	7,7
Tinción de Giemsa + inmunofluorescencia	15	7,7
Tinción de Giemsa + azul de toluidina	6	3,1
Tinción argéntica + inmunofluorescencia	6	3,1
Microscopía	5	2,6
Otros <sup>b</sup>	4	2,0
Blanco de calcoflúor	3	1,5
Tinción de Gram + azul de metileno/Giemsa	3	1,5
Tinción argéntica + azul de toluidina	2	1,0
Inmunofluorescencia + blanco de calcoflúor	2	1,0
Inmunofluorescencia + azul de toluidina	2	1,0
Tinción argéntica + blanco de calcoflúor	1	0,5
No informa	9	4,6
Total	196	100,0

<sup>a</sup>Tinciones argénticas: metenamina argéntica, Gomori-Grocott.

<sup>b</sup>Tinción de Gram, Papanicolau, PAS.

**Tabla 3. Elementos observados en la identificación.**

Elemento observado	Número	%
Quistes	7	53,8
Quistes y trofozoítos	4	30,8
Quistes con esporozoítos	1	7,7
Quistes, esporozoitos y trofozoítos	1	7,7
Total	13	100,0

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación del hongo objeto del control, se dispone de los siguientes datos: 179 (91,3%) participantes informaron no haberlo utilizado, nueve centros (4,6%) sí que lo emplearon, cuatro de ellos (2,0%) parcialmente y fueron ocho (4,1%) los laboratorios que no aportaron información al respecto.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control se analizaron 49 hojas de respuesta de participantes que efectuaban algún tipo de comentario, a veces varios, sobre el caso clínico que nos ocupa o las técnicas empleadas en la identificación del hongo objeto del control, por lo que el número total que se analiza es de 54. Como siempre, algunos fueron muy extensos, lo que obligó a sintetizarlos, tratando de no desvirtuar la idea que pretendían transmitir. Todos ellos quedan resumidos y agrupados en la tabla 4.

Los comentarios más frecuentes se refieren a la negatividad de la técnica de inmunofluorescencia. Como ya comentamos en el análisis de métodos, sólo un participante que empleó exclusivamente esta técnica no fue capaz de identificar el hongo y todos los que aportaron este comentario, identificaron correctamente la muestra, puesto que, además, realizaron otros métodos de tinción. A este asunto ya nos referimos desde el Programa de **Control de Calidad SEIMC**, indicando a los participantes que los dos portaobjetos con la impronta de la necropsia pulmonar fijada en metanol, fueron remitidos con la intención de que se realizasen las tinciones clásicas que se creyesen oportunas. Sin embargo, **no era recomendable** la realización de técnicas de **inmunofluorescencia**, por la posible obtención de resultados falsos negativos.

Otro de los comentarios más frecuentes es la referencia que hacían algunos de los participantes al hecho de que se trataba de una historia clínica compatible con el diagnóstico de *Pneumocystis jiroveci*; seis de estos centros, no identificaron el hongo por métodos microbiológicos aunque indicaron su sospecha a partir de la historia remitida.

Por lo que se refiere a los comentarios clínicos, fueron dos los participantes que indican que se trata de un agente productor de neumonía en pacientes seropositivos para el VIH con muy bajos recuentos de CD4, aunque hay otro participante que puntualiza que en la actualidad es una situación rara, a no ser que se trate de pacientes que no reciben profilaxis. Por otra parte fueron cuatro los centros que comentaron que el tratamiento indicado era el cotrimoxazol.

Algunos laboratorios exponen en sus comentarios algunas de las técnicas que emplearon, no incluidas en la tabla por tratarse de una tercera opción. Otros indican que no disponen de tinciones específicas y llama la atención el centro que contesta que no realiza este tipo de determinación por tratarse de un centro de referencia; con respecto a esto, desde el Programa de Control de Calidad se piensa que ésta precisamente era una muestra en la que una simple

tinción de Giemsa permitía llegar al diagnóstico, de modo que la visualización de los elementos fúngicos dependía en gran medida de la “pericia” del observador, y por lo tanto era susceptible de control por lo que un laboratorio de referencia debe estar de sobra capacitado para llevar a cabo su estudio.

**Tabla 4. Comentarios clínico-microbiológicos realizados por los participantes.**

Comentarios	Número	%
Inmunofluorescencia negativa	12	22,2
Historia clínica compatible con infección por <i>P. jiroveci</i>	9	16,6
También se empleó IF/PAS/Papanicolau/Gomori/Azul de toluidina	6	11,1
Muestra insuficiente o de calidad inadecuada	6	11,1
Tratamiento de elección: cotrimoxazol	4	7,4
No se dispone de técnicas adecuadas/tinciones específicas	3	5,5
Produce neumonía en pacientes VIH con recuento de CD4 muy bajos	2	3,7
Cuadro clínico compatible con la enfermedad de base del paciente	1	1,9
Desde 1988 se considera un hongo	1	1,9
Elevada parasitación	1	1,9
No descartamos <i>P. jiroveci</i> (rotura de material)	1	1,9
Difícil interpretación de las tinciones realizadas	1	1,9
Inmunofluorescencia positiva a pesar del aviso	1	1,9
Muestra negativa para <i>Pneumocystis</i> con tinción de Grocott e IF	1	1,9
La tinción no permite diferenciar entre especies.	1	1,9
Giensa: única tinción de la que se dispone	1	1,9
Lavado broncoalveolar: muestra de alta rentabilidad diagnóstica	1	1,9
Situación rara en la actualidad, salvo ausencia de profilaxis	1	1,9
Por ser laboratorio de referencia no realizamos este tipo de análisis	1	1,9
Total	54	100,0