

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR CONTROL BM-1/19

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 exudado nasofaríngeo, que se acompañaba de una historia clínica que correspondía a la de un paciente de 2 meses que era llevado a las urgencias pediátricas de su hospital de zona al presentar un fuerte cuadro de tos paroxística que le había producido vómitos. La madre relataba que el bebé llevaba padeciendo episodios de tos durante al menos 12 días. El bebé había sido llevado con regularidad al pediatra y había cumplido todos los controles habituales para su edad. El análisis de sangre mostró leucocitosis con claro predominio de linfocitos. Se tomó una muestra de exudado nasofaríngeo que fue remitida al Servicio de Microbiología para estudio de tos ferina.

Se solicitó a los participantes la **detección del genoma de *Bordetella pertussis* / *Bordetella parapertussis*** mediante PCR en el exudado nasofaríngeo, así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos.

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia fue el de detección positiva de genoma de *B. pertussis*. Este resultado se obtuvo mediante una PCR a tiempo real. Asimismo, la detección del genoma de *B. parapertussis* resultó negativa.

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 88 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área, de los que 78 remitieron hoja de respuesta. De ellos, 2 informaron que en su laboratorio no se realizaba ninguna de estas dos determinaciones,

por lo que en realidad fueron 76 los centros que aportaron resultados valorables. Ello supone un porcentaje de participación real del 86,4%, similar al del último control de Microbiología molecular (90,1%), en el que se remitió una alícuota liofilizada de heces para la detección del genoma de *Clostridioides difficile*.

DETECCIÓN DEL GENOMA DE *Bordetella pertussis*

La detección del genoma de *B. pertussis* fue realizada por los 76 centros que emitieron respuestas analizables (el 100,0%). Hubo dos centros que realizaron esta prueba con dos sistemas comerciales diferentes, por lo que se analizan 78 resultados. Todas las determinaciones (100,0%) informadas resultaron positivas, coincidiendo con el valor asignado.

En cuanto a los métodos utilizados para la detección de *B. pertussis*, hubo un claro predominio de la PCR a tiempo real (66 de las determinaciones informadas -84,6%-). Respecto a las marcas más empleadas, hubo una amplia variabilidad, destacando la utilización de los reactivos RealCycler® de Progenie. La totalidad de las marcas informadas se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Detección de genoma de *Bordetella pertussis* según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Positivo (% ^a)	Total
			Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	RealCycler® (Progenie)	18 (100,0)	18 (23,0)
	Simplexa™Bordetella (DiaSorin / Focus) ^c	12 (100,0)	12 (15,4)
	Allplex™ (Seegene)	11 (100,0)	11 (14,1)
	BioGX / BD Max™System	6 (100,0)	6 (7,7)
	SmartCycler Bp/Bpp (Cepheid)	6 (100,0)	6 (7,7)
	ARGENE® (bioMérieux)	1 (100,0)	1 (1,3)
	Bio-Evolution	1 (100,0)	1 (1,3)
	Diagenode	1 (100,0)	1 (1,3)
	FluoroType® (Hain)	1 (100,0)	1 (1,3)
	Great Basin Scientific (Vela Diagnostics)	1 (100,0)	1 (1,3)
	LightCycler® (Roche)	1 (100,0)	1 (1,3)
	Seeplex® (Seegene)	1 (100,0)	1 (1,3)
	TIB Molbiol	1 (100,0)	1 (1,3)
	Desarrollo propio	4 (100,0)	4 (5,1)
	No especifica	1 (100,0)	1 (1,3)
<i>Microarray</i>	FilmArray®	6 (100,0)	6 (7,7)

PCR	Desarrollo propio	3 (100,0)	3 (3,8)
	No especifica	2 (100,0)	2 (2,5)
Hibridación en bandas	GenoQuick® (Hain)	1 (100,0)	1 (1,3)
Total ^b	–	78 (100,0)	78 (100,0)

^aPorcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. ^bPorcentaje respecto del total de determinaciones. ^cSe han agrupado los *kits* Simplexa™ Bordetella Direct y Simplexa™ Bordetella Universal Direct Abreviaturas: PCR, reacción en cadena de la polimerasa.

DETECCIÓN DEL GENOMA DE *Bordetella parapertussis*

Esta prueba fue realizada por 68 de los 76 centros que emitieron respuestas analizables (89,5%). Todas las determinaciones excepto una se informaron como negativas (98,5%), coincidiendo con el valor asignado. El resultado discrepante correspondía a 1 centro (1,5%) que aportó un resultado positivo.

Respecto a los métodos utilizados en la detección de *B. parapertussis*, de nuevo hubo un predominio de la PCR a tiempo real. Respecto a las marcas más empleadas, como sucedía con la determinación anterior, RealCycler® de Progenie fue la más informada. El conjunto de las marcas informadas se detalla en la tabla 2.

Tabla 2. Detección de genoma de *Bordetella parapertussis* según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Negativo (% ^a)	Positivo (% ^a)	Total
				Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	RealCycler® (Progenie)	18 (100,0)	–	18 (26,4)
	Simplexa™ Bordetella (DiaSorin / Focus) ^c	12 (100,0)	–	12 (17,6)
	Allplex™ (Seegene)	10 (90,9)	1 (9,1)	11 (16,2)
	BioGX / BD Max™ System	6 (100,0)	–	6 (8,8)
	SmartCycler Bp/Bpp (Cepheid)	6 (100,0)	–	6 (8,8)
	Bio-Evolution	1 (100,0)	–	1 (1,5)
	Diagenode	1 (100,0)	–	1 (1,5)
	FluoroType® (Hain)	1 (100,0)	–	1 (1,5)
	Seeplex® (Seegene)	1 (100,0)	–	1 (1,5)
	TIB Molbiol	1 (100,0)	–	1 (1,5)
	Desarrollo propio	2 (100,0)	–	2 (2,9)
Microarray	FilmArray®	6 (100,0)	–	6 (8,8)
PCR	No especifica	1 (100,0)	–	1 (1,5)

Hibridación en bandas	GenoQuick® (Hain)	1 (100,0)	–	1 (1,5)
Total ^b	–	67 (98,5)	1 (1,5)	68 (100,0)

^aPorcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. ^bPorcentaje respecto del total de determinaciones. ^cSe han agrupado los *kits* Simplexa™ Bordetella Direct y Simplexa™ Bordetella Universal Direct. Abreviaturas: PCR, reacción en cadena de la polimerasa.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

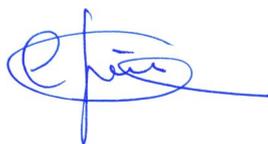
De las 76 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 72 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo, lo que supone un porcentaje del 94,7%; mientras que los 4 laboratorios restantes indicaron que sí lo utilizaron (5,3%).

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Dos centros especificaron que habían realizado una PCR casera para la detección de *Bordetella holmesii*, con resultado negativo. Otros dos centros comentaron explícitamente que el niño tenía una infección por *B. pertussis*.

Por último, como ya se ha señalado, dos laboratorios comentaron que la detección molecular de *B. pertussis* no estaba disponible en su cartera de servicios.

Madrid, 20 de noviembre de 2019



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.