

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS SEROLÓGICOS

Se envió a los distintos laboratorios una muestra de suero que había sido analizado y valorado para la detección de anticuerpos frente al virus de Epstein-Barr (VEB) en dos centros con experiencia en diagnóstico serológico del VEB, y cuyos resultados fueron tomados como referencia. Los resultados aportados por dichos centros fueron los siguientes:

- **Anticuerpos heterófilos: Positivo** (Títulos: 1:8 y 1:16)
- **Anticuerpos IgG frente al antígeno de cápside viral (VCA-IgG): Positivo** (ELISA: Positivo; IFI: Positivo (Título: >1/320))
- **Anticuerpos IgM frente al VCA (VCA-IgM): Positivo** (ELISA: Positivo; IFI: Positivo (Título:>1/80))
- **Anticuerpos frente al antígeno precoz [difuso+restringido (EAd+EAr)]: Positivo** (IFI: >1/10)
- **Anticuerpos EAd: Positivo** (IFI y ELISA)
- **Anticuerpos EAr: Positivo** (IFI)
- **Anticuerpos IgG frente al antígeno nuclear (EBNA-IgG): Positivo** (ELISA: Positivo; IFI: Positivo)
- **Anticuerpos IgM frente al antígeno nuclear (EBNA-IgM): Positivo** (ELISA: Positivo; IFI: Positivo)

La muestra de suero fue obtenida de un paciente de 8 años que presentaba una tumoración en el ángulo submandibular y laterocervical izquierdo, de crecimiento rápido. Dicho paciente refería dolor de garganta, disfagia y fiebre. En la exploración se observó un eritema difuso, con pseudomembranas en la faringe, y hepatomegalia a 4 cm del reborde costal, con enzimas hepáticas (ALT y AST) discretamente elevadas. Tres meses antes había presentado un cuadro similar, menos pronunciado clínicamente y que cedió sin tratamiento. En la muestra se solicitaba realizar pruebas serológicas frente al VEB, en función del nivel de complejidad de cada laboratorio, y las sugerencias o comentarios que se juzgase pertinentes.

Se enviaron muestras a 275 participantes y remitieron contestación un total de 227, lo que representa un porcentaje de participación real del 82,5%. De estos 227 cuestionarios, hay 7 (3,1%) que no informan resultados concretos, comentando que no realizan este tipo de estudio; tampoco utilizan laboratorio de referencia.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS HETERÓFILOS

Realizan esta determinación 181 participantes, lo que supone un porcentaje del 82,3% de los que envían respuesta válida. Hay 74 centros (33,6%) en los que esta determinación es la única prueba serológica para el VEB, no llevando a cabo pruebas de anticuerpos específicos.

El método más utilizado es la aglutinación con partículas de látex, que es usado por 83 centros (45,8%), seguido de la aglutinación con hemáties en 70 (38,9%). En 16 (8,8%) laboratorios utilizan un método de inmunoensayo en membrana, y en cinco (2,8%) un método que denominan inmunocromatográfico. La distribución de resultados según el método utilizado se resume en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la detección de anticuerpos heterófilos, según método.

| Método | Positivo | | Negativo | | Indeterminado | | Total | |
|---------------------|------------|-------------|-----------|------------|---------------|------------|------------|--------------|
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| Látex | 81 | 97,6 | 2 | 2,4 | – | – | 83 | 100,0 |
| Hemaglutinación | 62 | 88,6 | 7 | 10,0 | 1 | 1,4 | 70 | 100,0 |
| EIA membrana | 16 | 100,0 | – | – | – | – | 16 | 100,0 |
| Inmunocromatografía | – | – | 5 | – | – | – | 5 | – |
| Sin especificar | 7 | – | – | – | – | – | 7 | – |
| Total | 166 | 91,7 | 14 | 7,7 | 1 | 0,6 | 181 | 100,0 |

Se debe resaltar que hay 15 laboratorios que informan un resultado discrepante con los centros de referencia. Catorce de éstos fueron negativos, de los cuales 7 se realizaron mediante aglutinación con hemáties, dos con látex y cinco con varios sistemas que los participantes denominan inmunocromatográficos. Un único laboratorio informó el resultado como indeterminado.

Respecto a los equipos comerciales utilizados, se observa una amplia variedad de marcas, lo que ha dificultado el análisis de los resultados. Entre los métodos de aglutinación con partículas de látex, la marca comercial más usada fue Biokit (Monolátex, IZASA), utilizada en 39 centros, dando en todos ellos un resultado positivo. Las más frecuentes entre los que utilizaron una técnica de

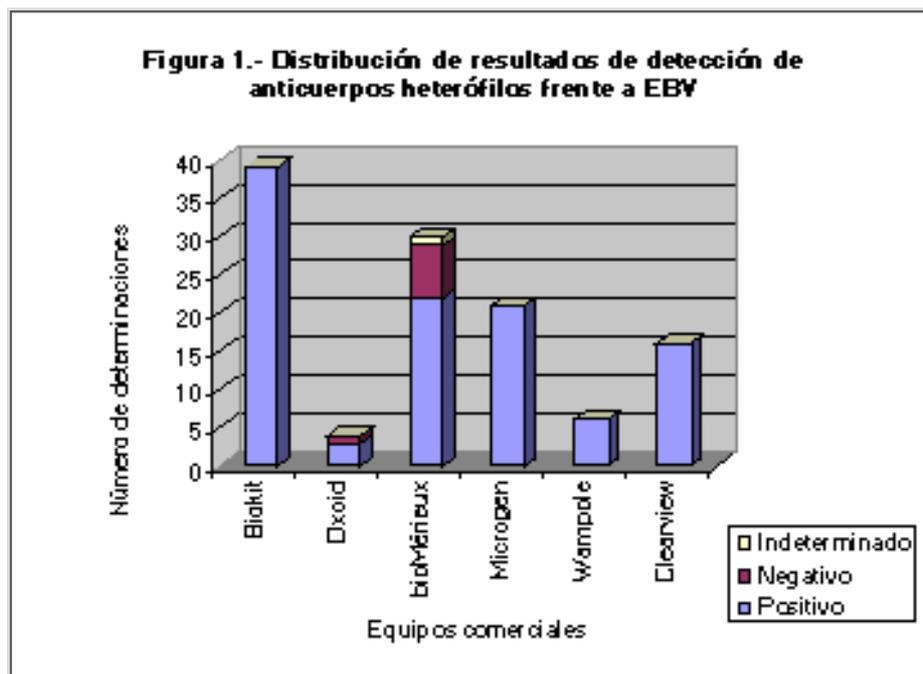
aglutinación con hemáties fueron bioMérieux (30 laboratorios) y Microgen (Innogenetics) en 21 centros. Hubo 16 participantes que emplearon un método de membrana, y sus resultados fueron concordantes con los de referencia. En la tabla 2 y en la figura 1, se reflejan los equipos comerciales empleados con mayor frecuencia por los participantes en este control.

Tabla 2. Resultados de la detección de anticuerpos heterófilos, según el equipo comercial.

| Equipo comercial | Positivo | | Negativo | | Indeterminado | | Total | |
|-----------------------|----------|-------|----------|------|---------------|-----|-------|-------|
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| Biokit (látex) | 39 | 100,0 | – | – | – | – | 39 | 100,0 |
| Oxoid (látex) | 3 | – | 1 | – | – | – | 4 | – |
| bioMérieux (hematíes) | 22 | 73,3 | 7 | 23,3 | 1 | 3,3 | 30 | 100,0 |
| Microgen (hematíes) | 21 | 100,0 | – | – | – | – | 21 | 100,0 |
| Wampole (hematíes) | 6 | – | – | – | – | – | 6 | – |
| Clearview (membrana) | 16 | 100,0 | – | – | – | – | 16 | 100,0 |

Con los equipos comerciales bioMérieux se obtiene el mayor número de resultados discordantes. Esta firma dispone de dos equipos con hemáties, con y sin absorción diferencial. Los resultados negativos correspondieron, en tres casos, al equipo con absorción diferencial, y en cinco al que no incluye este paso. El equipo de Microgen es de absorción diferencial; Wampole comercializa dos métodos de aglutinación con hemáties, uno de cribado y otro con absorción diferencial, no pudiendo precisar cuáles han usado los distintos centros, por no haber sido comunicado este dato. De ahí que los responsables del Programa hagamos hincapié en la importancia de especificar claramente los métodos y equipos con los que se han obtenido los resultados. Con ello se contribuye a la correcta evaluación de éstos, evitando sesgos, a la vez que permite detectar las posibles deficiencias técnicas de algunos equipos comerciales.

Sólo 17 centros titulan los anticuerpos heterófilos, informando 5 de ellos un título de 1:4; 10 de 1:8 y 2 de 1:16, coincidiendo con los datos aportados por los centros usados como referencia (1:8 en uno y 1:16 en el otro).



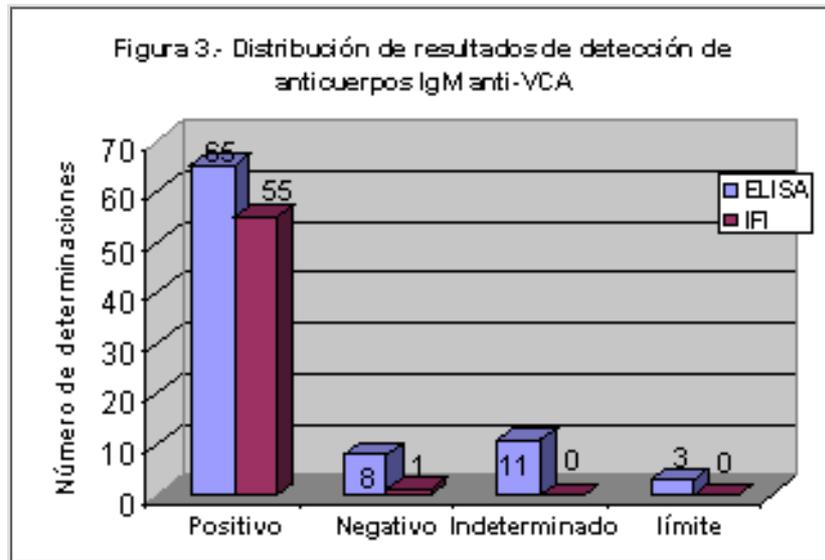
ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE AL VCA

Realizan esta determinación sólo 105 (47,7%) de los participantes que remiten una respuesta; es decir, menos de la mitad de los centros adscritos al Programa en el apartado de Serología disponen de la metodología necesaria para llevar a cabo dicha prueba. **En todas las ocasiones, ésta fue positiva, coincidiendo con la opinión de los laboratorios usados como referencia.** El método más común fue el ELISA, utilizado en 80 centros (76,2%), seguido de la inmunofluorescencia (IFI) en 24 casos (22,9%). Sólo un laboratorio realiza e informa ambos métodos, con resultados concordantes (Tabla 3 y Figura 2). Sin embargo, hay 29 centros que informan la determinación de VCA-IgG y no realizan ninguna prueba para detección de anticuerpos heterófilos.

Tabla 3. Resultados de la detección de VCA-IgG.

| Método y marca comercial | Número | % |
|--------------------------|--------|------|
| ELISA | 80 | 76,2 |

| | | | | | | | | | | |
|-------|-----|------|---|-----|----|-----|---|-----|-----|-------|
| Total | 121 | 84,0 | 9 | 6,3 | 11 | 7,6 | 3 | 2,1 | 144 | 100,0 |
|-------|-----|------|---|-----|----|-----|---|-----|-----|-------|



Los resultados discordantes con respecto a los aportados por laboratorios de referencia se obtienen mayoritariamente con el método de ELISA, siendo importante no sólo la existencia de 8 participantes que lo informan como negativo, sino también el elevado porcentaje de indeterminados o los 3 resultados en el límite que se obtienen con esta metodología. Los resultados según los equipos comerciales de ELISA se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de VCA-IgM obtenidos mediante técnicas de ELISA comerciales.

| Equipo comercial | Positivo | Negativo | Indeterminado | Título límite | Total |
|------------------|-----------|----------|---------------|---------------|-----------|
| Sorin | 14 | 1 | – | – | 15 |
| Gull | 11 | – | – | – | 11 |
| Wampole | 3 | 1 | 6 | – | 10 |
| Virotech | 4 | – | 3 | – | 7 |
| Behring | 4 | – | – | – | 4 |
| Melotest | 2 | 1 | – | – | 3 |
| Bioclinic | 2 | – | – | – | 2 |
| Pasteur | 2 | – | – | – | 2 |
| Otros | 4 | 3 | – | – | 7 |
| Sin especificar | 19 | 2 | 2 | 3 | 26 |
| Total | 65 | 8 | 11 | 3 | 87 |

Como puede apreciarse, hay una notable variedad de equipos comerciales de ELISA. El más utilizado es el de Sorin, con 14 sobre 15 resultados acordes con el de referencia. El equipo de Gull coincidió en todas las ocasiones. Sin embargo, más allá del tamaño pequeño de la muestra, el equipo de Wampole presenta un elevado número de discrepancias, pues sólo 3 de los 10 usuarios informan la prueba como positiva. La mayoría de ellos da un resultado indeterminado, es decir, no interpretable. Algo parecido ocurre con el equipo Virotech, aunque también aquí el tamaño de la muestra es pequeño. Estos datos contrastan con la elevada concentración de anticuerpos VCA-IgM presentes en la muestra, como señalan los laboratorios de referencia, e ilustran, una vez más, la necesidad de llevar a cabo controles de la calidad internos y externos.

Con respecto a la IFI, la valoración se ajusta más a los resultados tomados como referencia, con un sólo resultado discordante, aportado por un participante que no informa de la marca y que derivó la prueba hacia un laboratorio externo (Tabla 6).

Tabla 6. Detección de anticuerpos VCA-IgM con equipos de IFI.

| Equipo comercial | Positivo | | Negativo | | Total | |
|------------------|----------|-------|----------|---|--------|-------|
| | Número | % | Número | % | Número | % |
| Gull | 37 | 100,0 | – | – | 37 | 100,0 |
| MRL | 5 | – | – | – | 5 | – |

| | | | | | | |
|-----------------|----|------|---|-----|----|-------|
| Otros | 5 | - | - | - | 5 | - |
| Sin especificar | 8 | - | 1 | - | 9 | - |
| Total | 55 | 98,2 | 1 | 1,8 | 56 | 100,0 |

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL ANTÍGENO PRECOZ (EA)

Únicamente 28 (12,7%) laboratorios detectan anticuerpos frente al antígeno precoz (EA), utilizando como método ELISA o IFI según se resume en la tabla 7. Un laboratorio detecta anticuerpos mediante ELISA y no interpreta el resultado. Como en el caso anterior, y a pesar del pequeño tamaño de la muestra, cabe resaltar que es el método de ELISA el que más discordancia presenta con los resultados de referencia. Dentro de éstos, el método de Sorin (que detecta anticuerpos frente al Ead) es el más utilizado, y en 8 de las 9 ocasiones, el resultado discrepa con el de referencia (4 veces indeterminado y 4 negativo). En cuanto a los métodos IFI, el más usado fue el de Gull, que detecta anticuerpos Ead+Ear, y cuyo resultados fueron coincidentes con el centro de referencia.

Tabla 7. Resultados de la detección de anticuerpos EA.

| Método y equipo | Positivo | Negativo | Indeterminado | Total |
|---------------------|----------|----------|---------------|-------|
| ELISA | 5 | 6 | 4 | 15 |
| Sorin | 1 | 4 | 4 | 9 |
| Sonofi | 1 | - | - | 1 |
| Behring | 1 | - | - | 1 |
| Sin especificar | 2 | 2 | - | 4 |
| Inmunofluorescencia | 9 | 2 | 1 | 12 |
| Gull | 5 | - | - | 5 |
| Bios | 1 | 1 | - | 2 |
| Sin especificar | 3 | 1 | 1 | 5 |
| Total | 14 | 8 | 5 | 27 |

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL ANTÍGENO NUCLEAR (EBNA)

Hubo un total de 49 centros (22,3%) que realizaron esta prueba, si bien tres de ellos no la interpretan. Los resultados de las 46 respuestas restantes se resumen en la tabla 8. Hay 4 centros que informan de la existencia de anticuerpos IgM anti-EBNA.

Tabla 8. Resultados de la prueba de anticuerpos anti-EBNA.

| Método y equipo | Positivo | Negativo | Total |
|---------------------|----------|----------|-------|
| ELISA | 25 | 8 | 33 |
| Sorin | 10 | 4 | 14 |
| Wampole | 6 | - | 6 |
| Gull | 3 | - | 3 |
| Otros | 4 | 1 | 5 |
| Sin especificar | 2 | 3 | 5 |
| Inmunofluorescencia | 9 | 4 | 13 |
| Gull | 3 | - | 3 |
| Bios | 1 | 1 | 2 |
| Biopharm | - | 1 | 1 |
| Sin especificar | 5 | 2 | 7 |
| Total | 34 | 12 | 46 |

COMENTARIOS ADICIONALES

Por último, destacar que 45 (20,4%) participantes utilizan un laboratorio externo para poder informar algunas de las determinaciones solicitadas. Es un porcentaje mucho más elevado si lo comparamos con otros controles, y que se explica por el número y complejidad de las pruebas. De todas formas, a la hora de hacer el análisis de los resultados, desconocemos el número de laboratorios que podían realizar ellos mismos algunas de las determinaciones, y cuáles otras debieron remitir a un centro externo, ya que el formato del formulario de respuesta no permite conocer este dato. Nos planteamos, para posteriores controles, modificarlo si es posible, y así conocer cuáles son las determinaciones que se envían a dichos centros, permitiendo a los usuarios tener un mínimo control de la calidad de las pruebas que han de remitir fuera.

Sólo 80 de las 227 (36,4%) respuestas incluyen un comentario en la hoja de resultados, y son muy variados. En 53 casos comentan que se trata de una infección aguda, y en 4 que es una infección pasada. Un centro opina que se trata de un falso negativo de las pruebas de detección de anticuerpos heterófilos, y otros 4 que se trata de una mononucleosis. Desde el Programa de Control de Calidad SEIMC, esta variabilidad no nos sorprende, habida cuenta que la muestra remitida presentaba positividad a todos los marcadores, una circunstancia que no es habitual en la práctica. La revisión que sigue al presente análisis de resultados incidirá de forma explícita en las estrategias prácticas del diagnóstico de las infecciones por este virus.