

Se envió a los distintos laboratorios un suero analizado y valorado para la detección de anticuerpos frente a *Entamoeba histolytica* y frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en dos centros tomados como referencia. Los resultados de dichos centros fueron:

- Detección de anticuerpos (IgG+IgM) de *E. histolytica*: Positivo (1:1024)
- Detección de anticuerpos frente al VIH:

Cribado (ELISA):

Abbott (AxSYM): **Positivo débil**

Pasteur (Genelavia Mixt): **Positivo débil**

bioMérieux (Mini Vidas Duo): **Negativo**

Confirmación:

Chiron (RIBA): **Indeterminado**

(gp120-; gp41+/-; 31+/-; p24/26+/-; VIH-2-)

BioRad (inmunoensayo en membrana): **Indeterminado**

(p24: débil)

La muestra fue procedida de un paciente de 25 años, de raza negra, natural de Ghana que acudió a Urgencias por un dolor no cólico en el epigastrio e hipocondrio derecho, de tres días de evolución, no cólico. Presentaba además intolerancia a los alimentos, con náuseas y vómitos. No refería deposiciones diarreicas en ese momento, aunque hacía unos tres meses tuvo un episodio de diarrea, de características disintéricas, que duró en torno a una semana y cuya etiología no fue confirmada microbiológicamente. Era bebedor de grandes cantidades de alcohol y reconocía una alta promiscuidad sexual. No pudo documentarse adicción a las drogas parenterales.

El análisis de sangre puso de manifiesto la existencia de leucocitosis con desviación izquierda y un hematocrito normal. Las enzimas GOT y GPT se encontraban en el intervalo de normalidad mientras que la GGT estaba aumentada (131 mU/ml). En la ecografía abdominal se observó una masa de 6 cm situada en el lóbulo hepático derecho, no bien delimitada, heterogénea, compatible por las manifestaciones clínicas con un absceso. No hubo hallazgos dignos de mención en la vía biliar. El paciente fue ingresado en la Unidad de Enfermedades Infecciosas con sospecha de absceso amebiano. Se solicitó serología frente a *Entamoeba histolytica* y frente al VIH. El suero fue positivo para *E. histolytica* (1/1024) y negativo, por ELISA y *western-blot*, para el VIH.

Los responsables del Control, asumiendo que una gran parte de los laboratorios participantes no dispondrían de pruebas serológicas frente a *E. histolytica*, y pensando en las dificultades que todavía tiene el diagnóstico serológico del VIH, decidieron añadir al suero de dicho paciente una cantidad mínima de una mezcla de sueros con elevada concentración de anticuerpos específicos frente al VIH. Se pretendía conseguir un suero cercano a los límites de la positividad y que permitiese poner de manifiesto diferencias de sensibilidad entre los diferentes métodos. Como puede observarse por los datos aportados por los centros de referencia y por los participantes, hay que concluir que se trataba de una muestra muy crítica.

Los laboratorios utilizados como referencia para este control informaron de que las lecturas del método RIBA de Chiron realizadas por el aparato automático daban un resultado negativo (ausencia de bandas), aunque observando la membrana se evidenciaba el patrón descrito previamente. Aún en estas circunstancias, si se hubiesen seguido los criterios de interpretación definidos por la firma comercial, se debería haber informado igualmente como negativo. Por el contrario, si los criterios a seguir hubiesen sido los de la FDA, la muestra podría incluso considerarse positiva. La banda p24 observada en el inmunoensayo de membrana de Bio-Rad era muy tenue. El conocimiento de que en esta muestra de control existían anticuerpos en cantidad mínima, junto con la observación de algunas bandas, condujo a la decisión de informar el resultado como indeterminado, siguiendo los criterios de la OMS de 1990. La detección del antígeno p24 y la PCR (Roche) fueron negativas. Así pues, se trataba de un suero "conflictivo", que no parecería tener capacidad infecciosa, pero del que se sabía que contenía niveles muy bajos de anticuerpos específicos.

Se recibieron 230 hojas de respuesta de un total de 278 cuestionarios enviados, lo que supone una participación del 82,7%. Seis laboratorios (2,2%) remiten la hoja sin realizar las pruebas, ya que en esos centros dicen no disponer de las técnicas diagnósticas solicitadas ni las remiten a un laboratorio externo.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VIH (PRUEBAS DE CRIBADO)

En 11 centros, lo que supone un 4,8% de los participantes, no realizan las pruebas de cribado de anticuerpos frente a VIH, por lo que el porcentaje de participación en esta prueba es del 95,2% (219 centros). Un total de 50 de ellos (22,8%), realizan una segunda prueba de cribado, como confirmación. Así pues, el total de resultados a tener en cuenta en el análisis de las pruebas de cribado es de 269.

En la tabla 1 (figura 1) se exponen los resultados obtenidos por los distintos centros atendiendo al método y al equipo comercial utilizado.

Tabla 1. Distribución de los resultados de las pruebas de cribado, según el método utilizado

Métodos y marcas	Positivo		Negativo		Indeterminado		Positivo límite		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
MEIA										
AxSYM	38	64,4	4	6,8	3	5,1	12	20,3	59	100,0
Abbott	46	68,6	7	10,4	6	8,9	6	8,9	67	100,0
IMX	4	–	–	–	–	–	1	–	5	–
ELFA										
Vidas	5	8,8	43	75,4	4	7,0	5	8,8	57	100,0
IQL										
Access	–	–	6	–	–	–	1	–	7	–
ELISA										
Roche	8	–	–	–	3	–	2	–	14	–
Pasteur	–	–	8	–	2	–	1	–	11	–
Behring	–	–	13	–	1	–	–	–	14	–
Innogenetics	–	–	10	–	–	–	–	–	10	–
Test-Pack	–	–	5	–	–	–	–	–	5	–
Murex	–	–	3	–	–	–	–	–	3	–
Sorin	–	–	1	–	1	–	–	–	2	–
Organon	1	–	–	–	–	–	1	–	2	–
Otros	–	–	5	–	–	–	–	–	5	–
IFI										
Viroinmun	–	–	1	–	–	–	–	–	1	–
Inmunocromatografía	–	–	1	–	–	–	–	–	1	–
Sin especificar	2	–	3	–	–	–	1	–	6	–
Total	104	38,65	110	40,8	20	7,4	30	11,1	269	100,0

Cuatro centros que utilizan MEIA no informan el resultado final de la prueba de cribado, solicitando una nueva muestra para su confirmación. Un laboratorio participante (que utiliza el equipo de Roche) no interpreta el resultado obtenido. Por tanto, estos cinco casos están contabilizados en el total de la tabla, pero no como resultado parcial (positivo, negativo, indeterminado o límite).

El porcentaje de concordancia entre los resultados de los laboratorios que utilizan dos métodos de cribado es muy bajo, reflejando la tabla 2 los datos más significativos.

Tabla 2. Distribución de resultados de ambos métodos de cribado

Primer método	Segundo método	Número	%
Indeterminado	Indeterminado	2	4
Positivo	Positivo	8	16
Positivo débil	Positivo débil	2	4
Negativo	Negativo	15	30
Indeterminado	Positivo débil	3	6
Indeterminado	Negativo	3	6
Positivo	Negativo	8	16
Positivo débil	Negativo	5	10

Estos resultados demuestran claramente que hay diferencias en cuanto al umbral de detección (sensibilidad analítica) entre los distintos métodos que se usan actualmente como cribado. Hasta qué punto estas diferencias, puestas de manifiesto con una muestra muy crítica, tendrían repercusión en situaciones reales es algo que rebasa las posibilidades de este control. También habría que preguntarse si las ventajas de los métodos más sensibles no conducirían a una menor especificidad, con lo que representa un resultado falso positivo en esta determinación serológica. Este aspecto también está fuera de las posibilidades de un control de calidad externo. Lo que sí parece claro, a juicio de los responsables, es la necesidad de que las diferentes firmas comerciales establezcan sistemas de control en este sentido. También puede servir de guía para los centros oficiales de evaluación de estos equipos comerciales.

Los datos sobre las discrepancias entre dos métodos, apoya la práctica de realizar dos métodos de cribado, posibilitando así detectar sueros conflictivos. Es importante asimismo tener en cuenta no sólo los errores propios de la realización de la técnica, sino también de su interpretación. Cabe destacar el número de participantes que informa una prueba de cribado como indeterminada usando equipos comerciales (Abbott, Vidas, Pasteur) cuya interpretación de resultados se limita a Positivo, Negativo y Positivo límite (Zona gris).

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A VIH (PRUEBAS DE CONFIRMACIÓN)

Realizan técnicas de confirmación 89 (40,6%) de los participantes mediante técnica de detección de anticuerpos por enzimoanálisis en membrana frente a las distintas fracciones del VIH. Según los equipos comerciales utilizados los resultados se resumen en la Tabla 3 y figura 2.

En 7 centros realizan dos pruebas de confirmación, por lo que el total de resultados a analizar es de 96.

Tabla 3. Distribución de los resultados según el equipo comercial de confirmación.

Sistema comercial	Positivo		Negativo		Indeterminado		Positivo límite		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Innolia	7	21,2	8	24,2	18	54,5	–	–	33	100,0
Pasteur (<i>western blot</i>)	1	–	17	–	5	–	–	–	23	–
Pasteur (Pepti-LAV)	–	–	1	–	–	–	–	–	1	–
Biokit	2	–	2	–	8	–	2	–	14	–
Chiron (RIBA)	–	–	3	–	2	–	–	–	5	–
Sorin	–	–	3	–	–	–	–	–	3	–
Organon	–	–	2	–	–	–	–	–	2	–
Biotech	–	–	–	–	–	–	2	–	2	–
Western blot ^a	2	–	6	–	5	–	–	–	13	–
Total	12	12,5	42	43,7	38	39,5	4	4,1	96	100,0

^a sin especificar equipo comercial

Existen 32 centros (36%) que informan las bandas del enzimoanálisis en membrana, y cuyos resultados se expresan en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados según equipo comercial y bandas informadas

Equipo	Positivo	Indeterminado	Negativo
	(Nº y bandas)	(Nº y bandas)	(Nº y bandas)
Innolia (16 ^a)	1 gp120, gp41, p31, p24, p17 1 gp120, gp41, p24, p17(d) 1 gp41, p24, p17(d)	9 gp41, p24 (d) 2 gp41(d)	
RIBA (4)		2 gp41, p31, p24/26(d)	1 gp41, p31, p24/26(d) 1 gp41(d)

Pasteur (2)			1 p18(d) 1 gp40		
Biokit (5 ^b)	1 gp120, gp160, p24 1 gp160, p24		1 gp120 1 gp120, gp160		
Biotech (1)					1 gp160, gp120, gp41, p24, p17(d)
SE (4 ^c)			3 gp41, p24(d) 1 gp120, gp41, p24, p17(d)		

^a2 de ellos indican las bandas sin dar resultado, correspondiendo al patrón gp41, p24(+/-)

^b1 no especifica resultado con un patrón: gp160(+), gp120, p24(+/-).

^cSE: sin especificar el equipo comercial utilizado

La interpretación de las bandas que aparecen en el *western-blot* suele ser definida por cada uno de los equipos comerciales, debido a las distintas proteínas fijadas y a la distinta concentración de las mismas que tiene cada sistema. Sin embargo, deberían también tenerse en cuenta los criterios definidos por distintas organizaciones, como los de la OMS, FDA o CDC (ASTPHLD/CDC). Llama la atención la gran variabilidad de patrones de anticuerpos informados por los distintos centros y, sobre todo, las diferencias en su interpretación.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A *E. histolytica*

Detectan anticuerpos totales frente a *E. histolytica* en 72 centros (31,3%), cuyos resultados por método y equipo comercial se resumen en la tabla 5. Es un porcentaje bajo, pero incluso superior al esperado por los responsables del control, ya que se trataba de un tipo de determinación que no es frecuente en nuestros laboratorios.

Tabla 5. Resultados de la detección de anticuerpos totales frente a *E. histolytica*

Método	Total	Positivo	Negativo	No interpretado
ELISA (Diamedix)	1	1	–	–
ELISA (sin especificar)	8	8	–	–
Hemaglut. indirecta (Behring)	10	10	–	–
Hemaglut. indirecta (Fumouze)	12	12	–	–
Hemaglut. indirecta (sin especificar)	15	13	1	1
IFI (bioMérieux)	15	15	–	–
IFI (sin especificar)	7	6	–	1
Látex (Bichro)	4	4	–	–
Total	72	69	1	2

Sólo hay un centro discrepante con los resultados de los laboratorios de referencia, que no detecta anticuerpos frente a *E. histolytica*, utilizando para ello un método de hemaglutinación indirecta del que no especifica la marca comercial. Otros dos laboratorios informan el título, pero no la correspondiente interpretación del resultado; en ambos el título es elevado: 1/2560 y >1/2560, respectivamente.

Los títulos más frecuentes, obtenidos por los participantes que usan la técnica de hemaglutinación son 1/1024, 1/2560 y 1/5120. El laboratorio de referencia informó de un título de 1/1024 mediante esta técnica (marca comercial Behring), coincidiendo con la mayoría de los centros. Mayor variabilidad se ha observado con el sistema comercial de Fumouze, en donde seis participantes informaron de un título de 1/5120, otros cuatro de 1/10240 y uno de 1/40960. El título más frecuentemente informado entre los centros que utilizaron IFI fue 1/2560.

En 16 centros (22,2%) informan de la detección de anticuerpos IgG (22%), utilizando por igual ELISA e IFI. La prueba es positiva en los 15 laboratorios que interpretan el resultado (tabla 6).

Tabla 6. Anticuerpos IgG frente a *E. histolytica*

Método	Nº	Positivo
ELISA(Melotec)	5	5
ELISA(Cormédica)	1	1
ELISA (Sin especific.)	2	2
IFI(bioMérieux)	4	4
IFI(biosGMbH) ^a	1	–
IFI(Pasteur)	1	1
IFI (Sin especificar)	2	2

^aSólo informa un título de 1/10240, pero no lo interpreta

Por último, detectan anticuerpos IgM en 7 laboratorios (9,7%) utilizando todos IFI, estando los resultados reflejados en la tabla 7.

Tabla 7. Anticuerpos IgM frente a *E. histolytica*

Método	Nº	Positivo	Negativo
IFI (bioMérieux)	4	3	1
IFI (BiosGMbH) ^a	1	–	–
IFI (Pasteur)	1	1	–
IFI (Sin especificar)	1	1	–

^aNo informa resultado. Título 1/2560

Sólo un centro realiza las tres determinaciones, mediante IFI, y corresponde al que informa como negativa la detección de los anticuerpos específicos IgM y positiva las otras dos.

LABORATORIO EXTERNO DE REFERENCIA Y COMENTARIOS

Remiten la muestra a un laboratorio externo 51 centros (22,2%), la mayoría de ellos para realizar un método de confirmación para el VIH, del que no disponían en su laboratorio. En 18 casos especifican que usaron el laboratorio externo de referencia para la detección de anticuerpos frente a *E. histolytica*.

Hay quince centros que recomiendan la realización de la prueba del antígeno p24 y sólo 3 de ellos lo realizan, siendo el resultado negativo en todos ellos. También, un centro participante llevó a cabo una prueba de PCR y otro determinó la carga viral, siendo ambas negativas, lo que coincide con los datos aportados por los centros de referencia.

El comentario más frecuente, a la vista de los resultados, es la necesidad de disponer de una nueva muestra para confirmarlo, preferentemente al cabo de 2-3 semanas. También es un comentario extendido en este control la cantidad escasa de muestra enviada, lo cual está justificado por la dificultad de disponer de un suero con un título tan elevado de anticuerpos frente a *Entamoeba histolytica*.

Fig.1.- Distribución de resultados de detección de anticuerpos frente a VIH según método de cribado

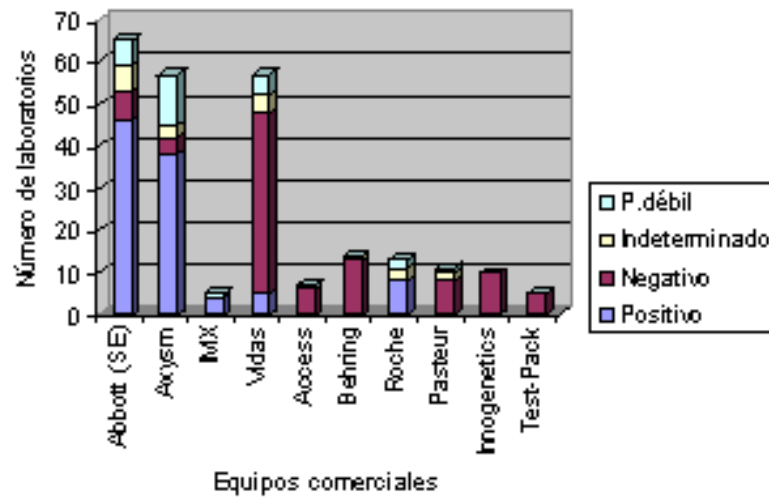


Fig 2.- Distribución de resultados según equipo comercial de confirmación

