

CONTROL DE CALIDAD DE SEROLOGÍA (S-2/02)

En el presente control se envió a los distintos laboratorios participantes, una muestra de suero que había sido analizada y valorada para la detección de anticuerpos de tipo IgG e IgM frente al virus herpes simple tipo 1 (VHS1) y virus herpes simple tipo 2 (VHS2) en un centro con experiencia en el diagnóstico serológico, y cuyos resultados fueron tomados como referencia. Los resultados aportados por dicho centro fueron los siguientes:

- **Anticuerpos IgG frente al VHS1: Positivo (EIA: Biokit[®], Izasa; EIA: Vircell).**
- **Anticuerpos IgM frente al VHS1: Negativo (EIA: Biokit[®], Izasa; EIA: Vircell).**
- **Anticuerpos IgG frente al VHS2: Negativo (EIA: Biokit[®], Izasa; EIA: Vircell).**
- **Anticuerpos IgM frente al VHS2: Negativo (EIA: Biokit[®], Izasa; EIA: Vircell).**

La muestra de suero pertenecía a una mujer de 32 años de edad, que acudió a la consulta de ginecología por presentar escozor y molestias vaginales desde hacía quince días, sin aumento del flujo vaginal. El examen ginecológico no reveló la existencia de lesiones externas ni internas. El único antecedente de interés que mencionó la paciente, con relación a posibles contactos sexuales que justificasen las molestias, fue una infección genital por el VHS2, padecida por su actual pareja dos años antes. Dicha infección fue tratada con aciclovir, existiendo dos episodios posteriores de recurrencia. Desde entonces las relaciones sexuales mantenidas por la pareja fueron siempre protegidas, hasta el momento que decidieron tener descendencia y que coincidió con el episodio de molestias relatadas por la paciente. Ante esos antecedentes, el ginecólogo envió a Microbiología una muestra de exudado vaginal para cultivo bacteriológico y micológico y, al no tener posibilidad de diagnosticar la infección herpética de forma directa, envió sangre para conocer el estado serológico de la paciente frente a dichos virus.

Se remitió a cada laboratorio participante una muestra de suero, solicitando la **detección de anticuerpos de tipo IgG e IgM frente al VHS1 y VHS2**, así como la **interpretación** de los resultados obtenidos, **comentarios** y **sugerencias** sobre la actitud a tomar.

Se enviaron muestras a 231 laboratorios, de los cuales remitieron hoja de respuesta un total de 167 (72,3%). De ellos, 33 participantes no aportan ningún resultado, comentando 32 centros que las determinaciones solicitadas no se realizan en su laboratorio mientras que un participante afirma haber enviado la muestra a un laboratorio externo pero sin haber recibido los resultados. Por todo ello, la participación real es de tan sólo 134 laboratorios, es decir del 58,0%.

ANÁLISIS DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE AL VIRUS HERPES SIMPLE 1+2

Se hace referencia en este apartado a la determinación de anticuerpos de género (VHS1+2). En conjunto, de los 134 centros que envían hoja de respuesta, sólo 64 participantes realizan esta determinación, lo que supone un (48,5%) de los participantes. Un centro informa dos resultados, ya que utiliza dos técnicas distintas. El método mayoritariamente empleado con gran diferencia frente al resto fue el enzimoanálisis (EIA), que es utilizado en 59 ocasiones (90,9%). El resumen de métodos empleados se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Detección de anticuerpos de tipo IgG frente a VHS1+2.

Método ^a	Número	%
EIA	59	90,9
Fijación de complemento	2	3,1
Aglutinación con partículas de látex	1	1,5
IFI	1	1,5
Inmunoquimiluminiscencia	1	1,5
No informa método	1	1,5
Total	65	100,0

^aAbreviaturas: ver texto.

De las 65 determinaciones, 63 (96,9%) obtienen un resultado positivo. Los dos restantes no interpretan el valor cuantitativo informado (1/64 y 1/640). De estos dos participantes, uno no informa método y el otro emplea una técnica de inmunofluorescencia (IFI). Curiosamente, éste es el participante que lleva a cabo la determinación mediante dos técnicas (la otra es el EIA), y en este caso sí que realiza la correspondiente interpretación del resultado instrumental, que informa como positivo.

Respecto a los equipos comerciales utilizados, cabe destacar la amplia variedad de marcas, lo que ha dificultado el análisis de los resultados. Entre los métodos de EIA, la marca comercial más usada fue Enzygnost[®] (Dade-Behring), empleada por 17 centros (26,2%, seguida en segundo lugar por Wampole[®] (Innogenetics) con 11 participantes (17,0%) y en tercer lugar por DiaSorin con 10 centros (15,4%), dando todos ellos un resultado positivo. Además, hay un número no despreciable de laboratorios (13,9%) que no informa de la marca comercial. En la tabla 2 se reflejan los equipos comerciales empleados con mayor frecuencia por los participantes en este control.

Tabla 2. Detección de anticuerpos de tipo IgG frente a VHS1+2 según equipo comercial.

Equipo comercial	Positivo	No interpretado	Totales marcas	
			Nº	%
Enzygnost® (Dade-Behring)	17	-	17	26,2
Wapole® (Innogenetics)	11	-	11	17,0
DiaSorin	10	-	10	15,4
No informa marca	9	-	9	13,9
Vircell	4	-	4	6,2
Biorad	2	-	2	3,1
Cobas-Core® (Roche)	2	-	2	3,1
Palex Medical	2	-	2	3,1
Otros	6	2	8	12,0
Total resultados	65	2	65	100,0

Los dos únicos centros que no interpretan el resultado emplean dos marcas comerciales distintas (Virion y Meridian) que quedan englobados en la tabla 2 en el casillero de "otros". En cuanto a los resultados cuantitativos, son informados por 40 centros, 35 de los cuales emplean una técnica de EIA, obteniendo resultados que oscilan entre 1,013 y 18,040, todos ellos positivos. Otros cinco laboratorios que usan otras técnicas, informan este dato con resultados como 1/32 y 1/16 para dos fijaciones de complemento, ambas positivas, una IFI con un valor de 1/640 no interpretado, un resultado tampoco interpretado de 1/64 y una inmunoquimioluminiscencia con un resultado positivo de 8,8.

ANÁLISIS DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgM FRENTE A LOS VHS1+2

Se contabilizaron 63 determinaciones (47,0%) de esta prueba, de los 134 laboratorios que envían hoja de respuesta analizable, aunque en realidad son 62 centros los que llevan a cabo esta detección pues, como en el caso anterior, hay un participante que realiza dos detecciones con métodos y equipos comerciales diferentes.

Sobre el total de las 63 determinaciones, 58 (92,0%) obtienen un resultado negativo, dos centros (3,2%) informan un resultado positivo y otros dos (3,2%) un resultado indeterminado. Resta tan sólo un participante (1,6%) que no interpretó el valor cuantitativo obtenido, que fue de 1/64. Estos resultados son coherentes con la extrapolación de los de referencia (ausencia de anticuerpos IgM frente a ambos tipos de virus).

Con respecto a los métodos utilizados para la detección de anticuerpos IgM frente a los VHS1+2, de nuevo es el EIA el mayoritariamente empleado, siendo informado por el 95,2% de los participantes. Tan sólo un laboratorio emplea una técnica de IFI y éste es precisamente el centro que realiza dos pruebas para esta determinación, en ambos casos con resultado negativo. Los dos laboratorios restantes no informan sobre el método empleado. Todos estos datos se resumen en la tabla 3.

Tabla 3. Detección de anticuerpos de tipo IgM frente a los VHS1+2 según método empleado.

Método	Positivo	Negativo	Indeterminado	No interpretado	Total	
					Nº	%
EIA	1	57	2	-	60	95,2
IFI	-	1	-	-	1	1,6
No informa	1	-	-	1	2	3,2
Total	2	58	2	1	63	100,0

^aAbreviaturas: ver texto.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, destaca la amplia variedad de las mismas, a pesar de que la gran mayoría de participantes emplea el mismo método (EIA). Como puede observarse en la tabla 4, hay un porcentaje considerable de laboratorios (15,8%) que no informan el equipo comercial utilizado.

Tabla 4. Detección de anticuerpos IgM frente a los VHS1+2 según equipo comercial.

Equipo comercial	Negativo	Positivo	No interpretado	Indeterminado	Total	
					Nº	%
Enzygnost® (Dade-Behring)	18	-	-	1	19	30,2
DiaSorin	10	-	-	-	10	15,8
No informa marca	8	1	-	1	10	15,8
Biokit® (Izasa)	4	-	-	-	4	6,3
Vircell	4	-	-	-	4	6,3
Otros	14	1	1	-	16	25,4
Total	58	2	1	2	63	100,0

Dado el elevado índice de resultados negativos obtenidos con todas las marcas y el escaso número de positividades encontrado no es posible encontrar asociaciones significativas entre los escasos falsos positivos

informados y los equipos empleados. Con respecto a los resultados cuantitativos, fueron 27 (42,9%) de las 63 pruebas realizadas, las que se acompañaban del valor numérico obtenido. De los 58 que dieron un resultado negativo, se informó del resultado cuantitativo en 24 ocasiones con un intervalo de valores entre 0,01 y 0,675. Los dos laboratorios que informaron el resultado indeterminado coincidieron en el valor cuantitativo que resultó ser en ambos casos de 0,146. Hay un centro que no interpreta el resultado, pero que da un valor de 1/64. Ninguno de los dos participantes que aportan un resultado positivo informan del valor obtenido.

ANÁLISIS DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE AL VHS1

Únicamente 72 laboratorios (53,7%) realizan esta prueba. De ellos, como se puede observar en la figura 1, 63 (87,5%) informan un resultado positivo, coincidente con el del laboratorio de referencia; dos centros (2,8%) interpretan los valores obtenidos como indeterminados, cuatro laboratorios (5,5%) aportan un resultado negativo y finalmente tres participantes (4,2%) no interpretan el resultado, aunque sí aportan el valor cuantitativo obtenido (3,45-3,8). Estos tres centros emplean el mismo método y marca: un EIA de Wampole® (Innogenetics).

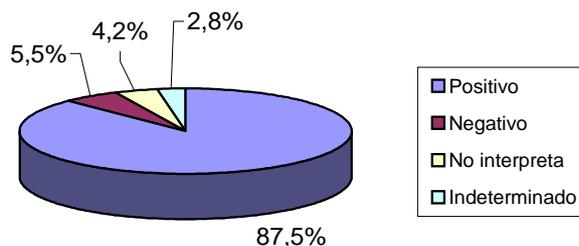


Figura1: Anticuerpos anti-VHS1 (IgG)

Como se puede observar en la tabla 5, el método más utilizado, al igual que ocurría en las pruebas anteriores, fue el EIA, empleado por 62 centros (86,1%), y en menor medida la IFI, usada por 6 participantes (8,3%). En ambos casos el número de resultados positivos concordantes con el obtenido por el laboratorio de referencia fue mucho mayor que el de resultados negativos. De los 72 participantes que realizaron esta determinación, tan sólo 3 (4,2%) no informaron la técnica empleada, dando en todos ellos un resultado negativo.

Tabla 5. Resultados de la detección de anticuerpos de tipo IgG frente al VHS1 según método empleado.

Método	Positivo	Negativo	Indeterminado	No interpretado	Total	
					Nº	%
EIA	55	2	2	3	62	86,1
IFI	5	1	-	-	6	8,3
No informa método	3	-	-	-	3	4,2
Fijación de complemento	-	1	-	-	1	1,4
Total	63	4	2	3	72	100,0

^aAbreviaturas: ver texto.

En cuanto a los equipos comerciales cabe destacar, el gran número de participantes que no informaron de la marca empleada, y cuyo método fue mayoritariamente (en 26 casos) el EIA. Entre todos éstos, tan sólo hubo un resultado negativo discordante con el del laboratorio de referencia. En el grupo que sí aporta esta información, hay que destacar la notable variedad de equipos comerciales. De ellos, los más usuales fueron los de Wampole® (Innogenetics) y Vircell (tabla 6). Todos estos datos los podemos ver reflejados en la tabla 6. En el apartado de "otros" quedan englobados 10 participantes que usaron un equipo diferente cada uno.

Tabla 6. Detección de anticuerpos IgG frente al VHS1 según equipo comercial empleado.

Equipo comercial	Positivo	Negativo	Indeterminado	No interpreta	Total	
					Nº	%
No informa marca	31	1	-	-	32	44,4
Wampole® (Innogenetics)	8	-	-	3	11	15,2
Vircell	6	-	2	-	8	11,1
Biokit®(Izasa)	4	2	-	-	6	8,3
DiaSorin	2	-	-	-	2	2,8
IBL®(Movaco)	2	-	-	-	2	2,8
Otros	10	1	-	-	11	15,4
Total	63	4	2	3	72	100,0

Los resultados cuantitativos fueron informados por 52 laboratorios: 45 de ellos presentaron un resultado positivo; los tres centros que no interpretan resultados aportan el valor numérico que oscila de 3,45 a 3,80 y de

los que dan un resultado negativo, dos aportan los datos cuantitativos, siendo éstos de 1/10 y <1/10 (por métodos de fijación de complemento e IFI).

ANÁLISIS DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgM FRENTE AL VHS1

Esta determinación fue realizada por 65 de los 134 laboratorios que enviaron resultados analizables, lo que supone un 48,5% del total. De ellos, 60 (92,4%) obtuvo un resultado negativo, acorde con el informe del laboratorio de referencia. Los resultados discordantes fueron escasos: un centro informó un resultado positivo, otro indeterminado y los tres restantes (4,6%) no interpretaron el resultado.

Como se refleja en la tabla 7, el método más empleado de nuevo es el EIA, que fue utilizado por un total de 53 laboratorios (81,5%) con resultados mayoritariamente acordes con el de referencia. Es con este método con el que se obtienen los resultados discordantes, pero su número es tan escaso que no se pueden obtener conclusiones. LA IFI fue utilizada por siete laboratorios (10,8%), en todos los casos con resultado negativo.

Tabla 7. Detección de anticuerpos de IgM frente al VHS1 según método empleado.

Método	Positivo	Negativo	Indeterminado	No interpretado	Total	
					Nº	%
EIA	1	48	1	3	53	81,5
IFI	-	7	-	-	7	10,8
No informa método	-	4	-	-	4	6,2
Fijación de complemento	-	1	-	-	1	1,5
Total	1	60	1	3	65	100,0

Con respecto a los equipos comerciales, un gran número de participantes (47,7%), no informa sobre la marca comercial empleada. El resto de participantes emplea una amplia variación de equipos. Como puede observarse en la tabla 8, casi todas las marcas dan resultados negativos de forma mayoritaria. Puesto que el número de efectivos es bajo, las discrepancias deben ser consideradas como un hecho aleatorio.

Tabla 8. Detección de anticuerpos IgM frente al VHS1 según equipo comercial empleado.

Equipo comercial	Positivo	Negativo	Indeterminado	No interpreta	Total	
					Nº	%
No informa marca	-	31	-	-	31	47,7
Vircell	-	8	-	-	8	12,4
Wampole® (Innogenetics)	-	5	-	3	8	12,4
DiaSorin	1	1	1	-	3	4,6
Enzygnost® (DadeBehring)	-	2	-	-	2	3,2
Virotech	-	2	-	-	2	3,2
Otros	-	11	-	-	11	16,5
Total	1	60	1	3	65	100,0

En cuanto a resultados cuantitativos, son informados por 44 de los laboratorios que realizan esta determinación (67,7%). Los 39 participantes que dan un resultado negativo con valor cuantitativo aportan valores que oscilan en un intervalo de 0,11 a 0,75. Los que informan los resultados positivo e indeterminado dan valores de 1,62 y 1,07 respectivamente y los tres centros que no interpretan el resultado aportan datos incluidos en un pequeño intervalo entre 0,26 y 0,43, por lo que presumiblemente se trata de resultados negativos.

ANÁLISIS DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE AL VHS2

De los 134 registros válidos recibidos, esta prueba es realizada por 82 participantes (81,2%). De ellos, 43 (52,4%) informan un resultado positivo, discordante con el del laboratorio de referencia, 35 centros (42,7%) aportan un resultado negativo coincidente con dicho laboratorio, uno (1,2%) da un resultado indeterminado y tres participantes (3,7%) no interpretan el resultado cuantitativo (figura 2)

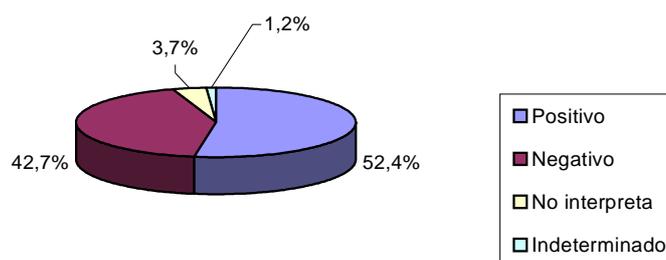


Figura 2: Anticuerpos IgG anti-VHS2

El método más empleado es el EIA, de modo que 71 laboratorios (86,6%) informan de su utilización, pero en este caso con una diversidad de resultados que no se daba en las otras pruebas analizadas, pues 30 centros aportan un resultado negativo coincidente con el del laboratorio de referencia, frente a los 37 laboratorios que aportan un resultado positivo discordante con el del laboratorio de referencia. La IFI es el segundo método más empleado, siendo informado por 7 centros (8,5%), con resultados también divergentes con el considerado como correcto por el control, puesto que de los siete, seis aportan un resultado positivo. Esta diversidad de resultados refleja la existencia de una reacción cruzada del VHS2 con los anticuerpos anti-VHS1 (tabla 9).

Tabla 9. Detección de anticuerpos de tipo IgG frente al VHS2 según método empleado

Método	Positivo	Negativo	Indeterminado	No interpretado	Total	
					Nº	%
EIA	37	30	1	3	71	86,6
IFI	6	1	-	-	7	8,5
No informa método	-	4	-	-	4	4,9
Total	43	35	1	3	82	100,0

^aAbreviaturas: ver texto.

En cuanto a los equipos comerciales, como en las detecciones anteriores, un gran número de laboratorios no informa de la marca empleada (42,7%), aunque también en este grupo se observa la discrepancia de resultados. Quizá el elevado número de laboratorios, que no informan del equipo empleado en sus determinaciones, se deba, en parte, a que dichos centros enviaron la muestra a laboratorios externos para realizar la determinación de estos anticuerpos específicos. Con respecto al resto de participantes que sí informa de la marca utilizada, se mantiene la variabilidad de las mismas, observándose entre los centros que emplean el equipo de Wampole® (Innogenetics) y DiaSorin una preponderancia de resultados discordantes (tabla 10).

En cuanto a los resultados cuantitativos, son informados por 61 centros (74,4%) de los 82 participantes que realizan esta determinación con 42 valores interpretados como positivos y comprendidos en un intervalo que oscila entre 1,13 y 3,9; 15 valores interpretados como negativos, comprendidos entre 0,177 y 0,58, y uno indeterminado cuyo dato numérico fue de 0,93. Los tres resultados no interpretados corresponden a un mismo método y marca (Wampole®) y, por el valor que obtienen (2,14), podrían ser catalogados como positivos.

Tabla 10. Detección de anticuerpos IgG frente al VHS2 según el equipo comercial empleado.

Equipo comercial	Positivo	Negativo	Indeterminado	No interpreta	Total	
					Nº	%
No informa marca	23	11	1	-	35	42,7
Wampole® (Innogenetics)	8	-	-	3	11	13,4
Vircell	-	10	-	-	10	12,2
Diasorin	5	1	-	-	6	7,4
Biokit®(Izasa)	-	6	-	-	6	7,4
Cobas-Core® (Roche)	-	3	-	-	3	3,7
IBL®(Movaco)	1	1	-	-	2	2,4
Otros	6	3	-	-	9	10,8
Total	43	35	1	3	82	100,0

ANÁLISIS DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgM FRENTE AL VHS2

Esta prueba fue realizada por 62 laboratorios (46,3%) de los 134 que enviaron hoja de respuesta. En este caso se obtuvo una distribución mucho más homogénea de los resultados, con tan solo tres centros (4,8%) que aportaron un resultado positivo, otros tres (4,8%) que no interpretaron los datos cuantitativos y 56 participantes (90,4%) que informaron un resultado negativo, acorde con el aportado por el laboratorio de referencia. De entre los métodos empleados para realizar esta determinación destaca en primer lugar el EIA, que fue utilizado por 53 centros (85,5%), con tan sólo dos resultados positivos y tres no interpretados. La IFI es empleada por 7 participantes (11,3%) igualmente con una mayoría de resultados negativos (tabla 11).

Tabla 11. Detección de anticuerpos IgM frente al VHS2 según método.

Método	Positivo	Negativo	No interpretado	Total	
				Nº	%
EIA	2	48	3	53	85,5
IFI	1	6	-	7	11,3
No informa método	-	2	-	2	3,2
Total	3	56	3	62	100,0

^aAbreviaturas: ver texto.

Por lo que respecta al equipo comercial empleado (tabla 12), como en las determinaciones anteriores, hay un gran número de laboratorios que no informa de la marca empleada, en concreto 30 centros (48,5%) de los cuales 28 dieron un resultado negativo y sólo dos un resultado positivo. Esto viene a apoyar más la idea de que muchos de los participantes emplean un laboratorio externo para realizar la determinación de anticuerpos específicos. Todas las marcas suelen coincidir en sus resultados con el de referencia, a pesar de que el número de efectivos no es muy elevado y no es posible obtener conclusiones rigurosas.

Tabla 12. Detección de anticuerpos IgM frente al VHS2 según equipo comercial.

Equipo comercial	Positivo	Negativo	No interpreta	Total	
				Nº	%
No informa marca	2	28	-	30	48,5
Vircell	-	10	-	10	16,2
Wampole® (Innogenetics)	-	6	3	9	14,5
DiaSorin	-	2	-	2	3,2
Otros	1	10	-	11	17,6
Total	3	56	3	62	100,0

UTILIZACIÓN DEL LABORATORIO EXTERNO

De las 134 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, 67 centros (50,0%) confirmaron que no utilizaron un laboratorio externo, cinco (3,7%) no informaron este dato, 52 (38,8%) afirman que sí lo emplearon, y 10 participantes (7,5%) comentaron que lo hicieron parcialmente. Este porcentaje tan alto de centros que emplean un laboratorio externo de referencia explicaría por qué en muchas pruebas no se informa de la marca comercial empleada.

COMENTARIOS

De los 134 participantes que envían hoja de respuesta analizable, son 46(34,3%) los centros que emiten algún tipo de comentario sobre el estado serológico de la paciente o las medidas a adoptar. En siete ocasiones se recomienda enviar una nueva muestra para valorar si existe seroconversión en 15-21 días. Por otro lado, son 15 los laboratorios que comentan que la serología de la paciente muestra una infección pasada por un VHS, sin especificar el tipo; de éstos, en un par de ocasiones, se afirma que éste no es un problema para el embarazo, ya que el riesgo de infección neonatal en las recurrencias es bajo, aunque hay tres laboratorios que afirman que podría ocurrir una reactivación durante el embarazo, en cuyo caso es muy importante el diagnóstico directo mediante cultivo celular o detección de antígeno.

Hay siete laboratorios que afirman que se trata de una infección pasada por el VHS2 y, en este caso, afirma alguno de ellos que debería realizarse una cesárea en el momento del parto, para evitar el contagio del neonato. Contrariamente a estos, hay un laboratorio que afirma que se trata de una infección reciente por VHS2, tres que se trata de una infección pasada por VHS1 y dos centros corroboran que se trata de una paciente sin contacto con el VHS2. Esta diversidad de comentarios se correlaciona perfectamente con la diversidad de resultados que observamos al realizar la detección de anticuerpos IgG frente al VHS2.

Puesto que las interferencias serológicas entre ambos tipos de VHS tienen consecuencias sobre la actitud a tomar en el caso de la gestante, el Programa de Control de Calidad recomienda la lectura de la revisión que acompaña a este análisis en el Boletín de Control de Calidad. En este sentido, y con buen criterio, son varios los participantes que se reafirman en la importancia de una toma de muestras de exudado cérvico-vaginal para realizar un diagnóstico directo.

Por parte de los responsables del Programa de Control de Calidad, hay que añadir, a la vista del conjunto de resultados obtenidos, que cabría plantearse la importancia de utilizar equipos de detección de anticuerpos específicos de tipo en los casos en los que pueda estar justificado, ya que los nuevos equipos diagnósticos no incrementan mucho los costes. Sin embargo, hay que reseñar de nuevo que algunos de estos equipos presentan reacciones cruzadas entre antígenos del VHS1 y del VHS2 debido a la gran homología existente entre estos virus, como bien muestran los resultados de este control.