

## CONTROL DE CALIDAD DE VIROLOGÍA V-1/02

En este control se remitió a los distintos laboratorios participantes una muestra de un cultivo celular en *shell-vial* fijada para realizar la detección del antígeno precoz de citomegalovirus (CMV). Se acompañaba de un supuesto clínico de infección congénita en un recién nacido. El neonato presentó al nacer un cuadro de fiebre, esplenomegalia, erupción máculo-papulosa, letargia y convulsiones. En la tomografía axial computarizada se objetivaron abundantes calcificaciones cerebrales. Tras descartar una sepsis neonatal y realizar una exploración a la madre se decidió cursar un cultivo viral de la orina de la madre y de las lesiones cutáneas. También se realizó determinaciones de serología en la madre que resultaron negativas para *Toxoplasma* y virus del herpes tipos 1 y 2, pero positiva para IgM de CMV (no disponiéndose de valores previos ya que la madre no se controló serológicamente durante la gestación). El *shell-vial* resultó positivo a las 24 h, y el cultivo en fibroblastos a los 7 días presentaba múltiples focos de células refringentes y redondeadas que progresaban sin destruir la monocapa. No se obtuvo crecimiento viral en la línea celular Vero. El centro que actuó como laboratorio de referencia detectó, mediante inmunofluorescencia, la presencia de antígeno precoz de CMV y, posteriormente, la presencia de focos discretos de un efecto citopático característico de CMV en los cultivos convencionales, confirmado mediante detección de antígeno específico.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Se enviaron un total de 61 cuestionarios y muestras a los distintos laboratorios participantes, obteniéndose respuesta de 33, lo que supone un porcentaje de participación bajo, del 54,1%. Tres formularios de respuesta no estaban cumplimentados; en dos de ellos se alegaba que no disponían de la técnica en su laboratorio y el tercero no respondió por problemas técnicos en la manipulación de la muestra. Así pues, se analizaron un total de 30 respuestas (49,2%). La valoración inicial de este bajo porcentaje de respuestas es que no son muchos los laboratorios con capacidad técnica para llevar a cabo este tipo de pruebas. De los 30 laboratorios que responden, 28 (93,3%) indican que no necesitaron recurrir a ningún laboratorio externo para el estudio de la muestra, uno (3,3%) no informa acerca de esta cuestión y otro (3,3%) dice haberlo requerido.

En lo que se refiere a la identificación del virus objeto del control se obtuvo un resultado acorde por el aportado por el laboratorio de referencia en el 63,3% de las ocasiones (19 participantes) y no consiguieron identificar al CMV el resto de los laboratorios (36,7%).

En cuanto a los métodos empleados para la detección de CMV en la muestra, en la mayoría de las ocasiones se informa, como era de esperar, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) que fue utilizada por el 93,3%, y tan sólo en 2 ocasiones se comenta haber recurrido a técnicas de reacción en cadena de polimerasa (PCR) para realizar dicha detección. En las dos ocasiones que se utilizó la PCR se llegó al diagnóstico correcto. En relación con la IFI, 17 laboratorios fueron los que detectaron el virus, lo que supone el 60,7%. Los datos se resumen en la tabla 1.

**Tabla 1. Métodos empleados en la identificación.**

Identificación <sup>a</sup>	Número	Número	
		Positivo	Negativo
IFI	28	17	11
PCR	2	2	0
Total	30	19	11

<sup>a</sup>Ver abreviaturas en el texto.

Por lo que respecta a las marcas comerciales utilizadas en la identificación de CMV se resumen en la tabla 2. A pesar del bajo número de efectivos, no parece observarse una tendencia hacia una mayor proporción de resultados discrepantes con el laboratorio de referencia, en función de la marca comercial utilizada.

**Tabla 2. Marcas comerciales utilizadas en el control.**

Método y marca	Número	Interpretación	
		Positivo	Negativo
Inmunofluorescencia			
Argene Biosoft	11	7	4
Vircell	4	3	1
Chemicon	4	3	1
Light-Diagnostics	4	2	2
SYVA	2	1	1
Bio-Rad	2	1	1
BioKit	1	-	1
PCR			
Desarrollo propio	1	1	-
Pharmagen	1	1	-
Total	30	19	11

### COMENTARIOS

En la tabla 3 se han agrupado los diferentes comentarios realizados por los participantes, intentando no desvirtuar la información que éstos pretendían transmitir. De los 33 participantes que remiten hoja de contestación,

realiza algún tipo de comentario un total de 20 (60,6%). Así, se obtienen 26 comentarios diferentes, ya que algunos laboratorios realizaron más de uno.

La mayoría de los participantes que comentan las manifestaciones clínicas indican que estamos ante un caso de infección congénita por CMV y, por esta razón, alguno recomienda que se realicen técnicas de confirmación, como pueden ser la PCR o la antigenemia en el neonato o, incluso, detectar IgM frente a CMV en el niño. [Se recuerda que el aislamiento del CMV en la orina del neonato establece definitivamente el diagnóstico de infección neonatal]. Un participante, además, sugiere que se debería realizar la detección de anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia humana en la madre, por tratarse de una gestación no controlada.

En cuanto al cultivo en *shell-vial*, cuatro participantes informan que la fluorescencia que obtuvieron era muy inespecífica y que por ello no detectaron CMV, otros dos dicen haber encontrado la monocapa muy deteriorada, siendo ésta la causa del resultado negativo e incluso un participante que sí lo detecta, dice haber observado el efecto citopático mal y piensa que puede ser debido a que el *shell-vial* era antiguo. Otro participante, que refiere haber tenido problemas durante la detección, sugiere que, además de la muestra fijada, se envíe también una alícuota de la muestra original, ya que así se podría volver a inocular. La dirección del Programa de Control de Calidad manifiesta, a este respecto, que todo el material se controló exhaustivamente antes de su envío, incluyendo tinciones inmunofluorescentes de una muestra representativa del lote. Por otra parte, no se consideró oportuno el envío de muestra original, ya que hubiera sido extremadamente difícil garantizar la viabilidad de las partículas víricas y, en consecuencia, la homogeneidad del material de control.

Por último, como ya se ha comentado al principio del análisis de los resultados, dos participantes dicen no disponer de dicha técnica para la detección de dicho virus en su laboratorio y un tercero que tuvo problemas técnicos durante la manipulación de la muestra remitida por parte de Control, por lo que no pudo realizar dicha detección.

**Tabla 3. Comentarios de los participantes.**

Comentarios	Número	% <sup>a</sup>
Problemas técnicos impidieron la lectura del <i>shell-vial</i>	1	3,8
No realizamos esta técnica en nuestro laboratorio	2	7,7
Solicitar prueba de VIH a la madre	1	3,8
Infección congénita por CMV	9	34,6
Técnicas confirmatorias: antigenemia o PCR	1	3,8
Efecto citopático muy precoz	1	3,8
Realizar serología IgM frente a CMV en el neonato	1	3,8
La tinción del <i>shell-vial</i> presenta fluorescencia inespecífica	4	15,4
Efecto citopático muy extenso	1	3,8
La casi totalidad de la monocapa está infectada	1	3,8
Monocapa celular muy deteriorada	2	7,7
Aspecto del efecto citopático del CMV muy tardío	1	3,8
Es conveniente remitir alícuota de muestra original	1	3,8
Total	26	100,0

<sup>a</sup>sobre el total de comentarios.

Por último, como ya se ha comentado al principio del análisis de los resultados, dos participantes dicen no disponer de dicha técnica para la detección de dicho virus en su laboratorio y un tercero que tuvo problemas técnicos durante la manipulación de la muestra remitida por parte de Control, por lo que no pudo realizar dicha detección.