

CONTROL DE CALIDAD DE VIROLOGÍA (V-1/03)

En el presente control se envió a los distintos laboratorios participantes una muestra con líquido cefalorraquídeo en medio de transporte para virus procedente del paciente que se comenta en la historia clínica. Se trataba de un niño de tres meses de edad que presentaba fiebre de 39°C desde hacía dos días, irritabilidad y vómitos. En la exploración, existía una ligera rigidez de nuca, las fontanelas no estaban abombadas, la presión sanguínea era normal y presentaba taquicardia de 180 pulsaciones/min. El análisis de sangre mostró una anemia y una linfocitosis, con electrolitos normales. El resto de la exploración fue anodina, pero fue ingresado en la sala de Pediatría/lactantes para su observación. Como antecedentes de interés, la madre refería que, hacía dos semanas, había presentado un cuadro de diarrea, sin filiación etiológica, que remitió con rehidratación oral y sin antibióticos. Al día siguiente del ingreso, la fontanela anterior estaba abombada, persistía la fiebre y se procedió a realizar una punción lumbar, que reveló la existencia de 75 células/mm³, con un 30% de linfocitos, 10% de monocitos y 60% de neutrófilos, una glucosa de 60 mg/dl y 22 mg/dl de proteínas. En la tinción de Gram no se observaron bacterias y escasos linfocitos y neutrófilos, y el cultivo fue negativo para los patógenos meníngeos bacterianos más habituales, y tampoco se detectaron antígenos de éstos en el líquido cefalorraquídeo. A los cuatro días, se observó un efecto citopático compatible con un virus en los cultivos celulares inoculados con la muestra.

Se solicitaba a los participantes el procesamiento e **identificación del virus de la muestra**, así como que **formulasen los comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos. Se enviaron un total de 67 cuestionarios y muestras a los distintos laboratorios, de los que 38 (56,7%) remitieron hoja de respuesta. De ellas, dos (5,3%) no contenían resultados valorables (el estudio virológico solicitado no se realizaba en su laboratorio) por lo que, en realidad, fueron 36 los centros con resultados analizables, siendo el porcentaje de participación real del 53,7%.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

De los 36 resultados evaluables, tan sólo dos (5,6%) no llegaron a la identificación del virus objeto del control. El resto de participantes (94,4%) encuadraron correctamente el virus dentro de la familia *Picornaviridae*, de forma que la mayoría de laboratorios (58,3%) lo informó como un Enterovirus y un porcentaje menor (36,10%) llegaron a identificarlo como Echovirus. Seis de éstos (16,7%) fueron capaces de establecer el serotipo, cinco correctamente y uno (serotipo 5) discrepante con el laboratorio de referencia, quien estableció que se trataba de un Echovirus serotipo 11. Todas estas respuestas fueron consideradas como aceptables por parte del Control de Calidad (tabla 1).

Tabla 1. Resultados de la identificación virológica.

Identificación	Número	%
Enterovirus	21	58,3
Echovirus	7	19,4
Echovirus serotipo 11	5	13,9
Echovirus serotipo 5	1	2,8
No identificado	2	5,6
Total	36	100,0

En cuanto a los métodos utilizados en la identificación del virus y como cabría esperar, la mayoría de los participantes emplearon el cultivo celular, bien en su versión en tubo o en el formato rápido en *shell vial*, o en ambos a la vez. En total, el 83,3% de los participantes utiliza un método basado en el cultivo, en siete ocasiones complementado con la amplificación por PCR. Este método es usado de forma exclusiva por seis participantes (16,6%).

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Cultivo celular	11	30,5
Cultivo celular + inmunofluorescencia	8	22,2
PCR	6	16,6
Cultivo celular + PCR	5	13,9
Cultivo rápido en <i>shell-vial</i>	2	5,6
Cultivo celular + <i>shell-vial</i> + PCR	2	5,6
Cultivo celular + neutralización	1	2,8
Cultivo celular + <i>shell-vial</i>	1	2,8
Total	36	100,0

Por lo que respecta a las marcas comerciales utilizadas en la identificación, los participantes que realizaron inmunofluorescencia tras cultivo celular o en *shell-vial*, emplearon mayoritariamente los reactivos de Vircell®, Chemicon® (Cormédica) y Dako®. En cuanto a los participantes que realizan una PCR, no parece existir un predominio, puesto que el número de respuestas es menor y, además, hay participantes que no aportan información al respecto. Cabe destacar los equipos de Roche® y Real® (Oxoid). Llama la atención la utilización del primero de los equipos de PCR, ya que se dejó de comercializar hace tiempo. Todos estos datos están resumidos en la tabla 3. Los dos únicos

participantes que no llegaron al diagnóstico utilizaron, respectivamente, el cultivo celular (Vircell®) y el otro llevó a cabo una PCR (Real® Oxoid).

Tabla 3. Marcas comerciales utilizadas.

Método y Marca	Número
Inmunofluorescencia	
Vircell®	9
Chemicon® (Cormedica)	6
Dako®	4
bioMérieux®	2
No informa	2
PCR	
No informa	3
Real® (Oxoid)	1
Innogenetics®	1
Fabricación propia	1
IF + PCR	
No informa	2
Innogenetics® + Roche®	1
No informa + Roche	1
Dako® + No informa	1
Chemicon® (Cormédica) + No informa	1
Chemicon® (Cormédica) + Real® (Oxoid)	1

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De las 36 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 26 los centros que afirman que no necesitaron recurrir a un laboratorio externo de referencia para llevar a cabo la identificación, lo que supone un porcentaje del 72,2%; ocho participantes (22,2%) afirmaron haberlo empleado y dos centros (5,6%) no aportaron información a este respecto. La valoración inicial del bajo porcentaje de centros que remitieron hoja de respuesta es que no son muchos los laboratorios con capacidad técnica para llevar a cabo este tipo de pruebas, aunque es cierto que la mayoría de los que sí lo hacen son bastante autosuficientes, como demuestra que muy pocos requirieron derivar la muestra a un laboratorio externo, ni siquiera parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control, se analizaron 33 hojas de respuesta de las 36 remitidas que efectuaban algún tipo de comentario, a veces varios, sobre el caso clínico que nos ocupa o las incidencias derivadas del método y equipo empleados en la identificación del virus.

En principio la observación más frecuentemente realizada por los participantes, fue la línea celular empleada en el cultivo, y en este sentido fueron 29 los centros que aportaron los tipos celulares utilizados. En la tabla 4 se observan todas las combinaciones aportadas por los centros que llevaron a cabo el cultivo celular, destacando el empleo mayoritario de la línea celular de fibroblastos MRC-5, sola o en combinación con otras.

Tabla 4. Líneas celulares empleadas en estudio de identificación.

Comentario	Número
MRC-5	14
MRC-5 + A-549	2
RD + A-549	2
Fibroblastos + Vero	1
MRC-5 + BGMK	1
MRC-5 + Hep2	1
MRC-5 + Hep2 + A-549	1
MRC-5 + RD	1
MRC-5 + RD + Hep2	1
MRC-5 + RD + Hep2 + A-549	1
MRC-5 + RD + Hep2 + Vero	1
MRC-5 + RD + Hep2 + Vero + LB20	1
MRC-5 + RD + Vero	1
RD	1

Por otra parte, tan sólo tres laboratorios hicieron alguna observación clínica sobre el caso, informando que se trataba de una meningoencefalitis por enterovirus. Uno de los participantes en el control indica en sus comentarios que obtuvo un cultivo negativo con una PCR positiva y otro centro informa que envía la muestra al laboratorio de referencia para confirmar el resultado.