

CONTROL DE CALIDAD DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR (BM-1/12)

En el presente control, se envió a los distintos laboratorios participantes una alícuota que contenía una muestra de plasma de un paciente de 38 años de edad, sin antecedentes patológicos de interés, que consultaba a su médico de familia por presentar, desde hacía aproximadamente una semana, un cuadro de astenia intensa, anorexia, malestar general y artromialgias generalizadas. Refería febrícula vespertina, y ligera odinofagia. A la exploración, se evidenciaban signos de faringoamigdalitis y una pequeña adenopatía laterocervical. La palpación abdominal mostraba una discreta esplenomegalia. El paciente refería que, hacía tres semanas, su hijo (de dos años de edad) había padecido un cuadro febril con faringoamigdalitis que no llegó a requerir tratamiento antibiótico. El análisis de sangre mostró una linfocitosis relativa con linfocitos atípicos, por lo que se remitió una muestra de sangre al Servicio de Microbiología para estudio de virus. La detección de anticuerpos (IgG e IgM) frente a distintos virus de la familia herpes fue positiva, por lo que se decidió la realización, entre otras, de una PCR para citomegalovirus.

Se solicitó a los participantes que procesaran la muestra de plasma para la detección del **genoma de citomegalovirus (CMV)** mediante PCR, así como que formularan los comentarios que consideraran oportunos.

El laboratorio que actuó como centro de referencia informó de la detección de genoma de citomegalovirus, mediante la realización de PCR *real-time* con el reactivo comercial RealCycler (de Progenie Molecular) utilizando el equipo SmartCycler (de Cepheid, distribuido por Izasa). Asimismo, la detección de genoma del virus de Epstein Barr (VEB) fue negativa empleando el mismo sistema comercial.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DEL GENOMA DEL CITOMEGALOVIRUS

La muestra de plasma fue enviada a 88 laboratorios de los que 79 (89,8%) remitieron hoja de respuesta. De ellos, cinco centros informaron que en su laboratorio no se realiza esta determinación, por lo que en realidad fueron 74 los centros que aportaron resultados valorables, siendo el porcentaje de participación real del 84,1%.

En total, se realizaron 75 determinaciones, ya que un centro empleó dos sistemas comerciales para realizar esta técnica. La detección del genoma de CMV resultó positiva en 59 de las 75 determinaciones (78,7%), resultado concordante con el del centro de referencia. En cuanto al resto de determinaciones, 13 fueron negativas, 2 centros informaron un resultado indeterminado, mientras que la determinación restante fue no interpretable (debido a la inhibición del control interno).

De las 75 determinaciones efectuadas para la detección del DNA del CMV, 72 se hicieron por PCR a tiempo real (96,0%) y las 3 restantes fueron por PCR convencional (4,0%). Respecto a la PCR a tiempo real, las marcas comerciales más empleadas fueron el Cobas Taqman de Roche (20,0% de los participantes que realizaron la prueba, con un 66,7% de aciertos) y el equipo SmartCycler de Cepheid (utilizado por 15 centros, agrupando los reactivos Smart de Cepheid y RealCycler de Progenie). La totalidad de métodos y marcas empleadas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Métodos y marcas utilizados en la detección de genoma del Citomegalovirus

Método	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)
PCR	Desarrollo propio	1 (1,3)	1 (100,0)
	No informada	2 (2,6)	2 (100,0)
PCR <i>real-time</i>	Cobas Taqman (Roche)	15 (20,0)	10 (66,7)
	Smart (Cepheid)	12 (16,0)	7 (58,4)
	Abbott	7 (9,4)	6 (85,7)
	Argene (bioMérieux)	5 (6,7)	4 (80,0)
	RealStar (Altona)	5 (6,7)	5 (100,0)
	Roche ¹	5 (6,7)	2 (40,0)
	Affigene (Cepheid)	3 (4,0)	3 (100,0)
	Artus (Qiagen)	3 (4,0)	3 (100,0)
	LightCycler (Roche)	3 (4,0)	2 (66,7)
	Nanogen Advanced Diag.	3 (4,0)	3 (100,0)
	RealCycler (Progenie)	3 (4,0)	3 (100,0)
	Simplexa (Focus)	3 (4,0)	3 (100,0)
	AB Analítica (Focus)	1 (1,3)	1 (100,0)
	Desarrollo propio	3 (4,0)	3 (100,0)
No informada	1 (1,3)	1 (100,0)	
Total		75 (100,0)	59 (78,7)

¹No especifica si es COBAS Taqman o LightCycler.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DEL GENOMA DEL VIRUS DE EPSTEIN-BARR

La detección del DNA del VEB, no solicitada en este control, fue realizada por 8 de los 74 centros que enviaron hoja de respuesta con datos analizables (10,8%). Todos ellos (el 100,0%) obtuvieron un resultado negativo, coincidiendo con el centro de referencia. Como ya sucedía con la determinación anterior, el método mayoritariamente empleado fue la PCR *real-time* y, dentro de este grupo, la mitad de los participantes emplearon el equipo comercial SmartCycler (agrupando los reactivos de Cepheid y de Progenie). Estos datos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos y marcas utilizados en la detección de genoma del virus de Epstein-Barr

Método ^a	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)
PCR <i>real-time</i>	Smart (Cepheid)	3 (37,5)	3 (100,0)
	RealStar (Altona)	2 (25,0)	2 (100,0)
	RealCycler (Progenie)	1 (12,5)	1 (100,0)
	Roche ¹	1 (12,5)	1 (100,0)
No informa	No informada	1 (12,5)	1 (100,0)
Total		8 (100,0)	8 (100,0)

¹No especifica si es COBAS Taqman o LightCycler.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo de referencia para la realización de la prueba solicitada, de los 74 centros que realizaron esta técnica, 69 (93,2%) afirmaron no haberlo utilizado, mientras que los 5 laboratorios restantes indicaron que sí lo habían utilizado (6,8%).

COMENTARIOS

Cinco centros que obtuvieron un resultado negativo con el COBAS Taqman de Roche comentaron que este sistema comercial requiere de un volumen mínimo de muestra de 500 µl, pero que habían recibido un volumen inferior, por lo que tuvieron que diluir la muestra, afectando a la sensibilidad. También es cierto que la concentración de DNA en la muestra estaba cercana al límite de sensibilidad de la técnica usada como referencia.

Cinco participantes comentaron que el diagnóstico de la mononucleosis infecciosa es serológica y que la PCR del CMV no estaba indicada en un paciente inmunocompetente. Tres participantes especificaron que el paciente tenía una infección aguda por CMV. También tres participantes recomendaron realizar serología del VEB. Dos participantes comentaron que el paciente tenía una carga viral baja de CMV y que tenían que interpretarla en base a la serología obtenida.

Dos participantes que obtuvieron un resultado negativo para la determinación del DNA de CMV especificaron que la alícuota de plasma les había llegado a temperatura ambiente, en vez de congelada. Por último, un participante comentó que debería crearse en España un grupo de trabajo para estudiar la normalización de la carga viral de CMV.