

CONTROL DE CALIDAD DE SEROLOGÍA (S-2/05)

En el presente control se remitió a los distintos laboratorios participantes una muestra de suero liofilizado que había sido analizado y valorado para la determinación de anticuerpos frente a *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydomphila pneumoniae*, por un centro de referencia con experiencia en el diagnóstico serológico, y cuyos resultados fueron los siguientes:

- **Anticuerpos de tipo IgG frente a *M. pneumoniae* mediante EIA: Positivo** (Vircell).
- **Anticuerpos de tipo IgM frente a *M. pneumoniae* mediante EIA: Positivo** (Vircell).
- **Anticuerpos de tipo IgG frente a *C. pneumoniae* mediante IFI: Negativo** (Vircell, Focus).
- **Anticuerpos de tipo IgM frente a *C. pneumoniae* mediante IFI: Negativo** (Vircell, Focus).

La muestra de suero pertenecía a un varón de 25 años de edad, sin antecedentes patológicos de interés, que acudió a urgencias médicas por presentar un cuadro de inicio subagudo con fiebre (38,5° C), cefalea, molestias faríngeas, malestar general y tos persistente con escasa expectoración. El paciente describió la aparición de un exantema urticariforme que afectó al tronco y miembros superiores durante los últimos días. La radiografía de tórax mostró la afectación del lóbulo medio con aparición de un patrón intersticial. Sin embargo, la auscultación pulmonar no reveló datos importantes y el análisis de sangre no mostraba leucocitosis. Se tomó una muestra de esputo que fue enviado al laboratorio de Microbiología. En el examen microscópico directo se informó de la presencia de escasa flora microbiana mixta y en el cultivo no se aisló ninguna bacteria con significación clínica; ante la persistencia del cuadro y el deterioro del estado del paciente, su médico decidió solicitar una serología para detectar anticuerpos frente a microorganismos productores de neumonías atípicas. El paciente recibió tratamiento con claritromicina y mejoró progresivamente hasta quedar asintomático a las dos semanas.

Se solicitó a los laboratorios participantes, que realizaran pruebas serológicas para la detección de anticuerpos de clase IgG e IgM frente a *M. pneumoniae* y *C. pneumoniae*, así como que formularan las sugerencias, comentarios e interpretación de los resultados obtenidos, que considerasen pertinentes.

Se enviaron un total de 238 muestras de suero a los diferentes laboratorios participantes, de los que 178 (74,8%) remitieron hoja de respuesta. De ellos, 24 centros informaron que no se realizaban estas determinaciones en su laboratorio, un participante comentó que la muestra se había perdido por accidente de laboratorio y otro que no determinaban estos marcadores en suero único, sino que valoraban la seroconversión con dos sueros, por lo que en realidad, fueron 152 los centros que aportaron resultados analizables, siendo el índice de participación real del 63,9%. Este es el porcentaje de participación más bajo de los últimos controles, por lo que desde el Control de Calidad SEIMC, se recuerda la importancia de remitir los resultados de todas las secciones a las que cada centro está adscrito y la conveniencia de tratar el caso problema de la misma forma que se haría con una muestra normal, remitiéndola si así fuese necesario al centro de referencia.

RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A *Chlamydomphila pneumoniae*

Prueba de detección de anticuerpos de tipo IgG

Esta prueba fue llevada a cabo por 127 laboratorios (83,6%) de los 152 que remitieron hoja de respuesta con resultados analizables. Además, uno de ellos realizó la prueba por duplicado, por lo que en realidad se analizan 128 determinaciones. De éstas, como se observa en la figura 1, 85 (66,4%) informaron un resultado negativo coincidente con el laboratorio de referencia, un porcentaje considerable de centros (24,2%) aportaron un resultado positivo discordante, ocho participantes (6,3%) informaron un resultado indeterminado y cuatro centros (3,1%) no interpretaron el valor numérico aportado.

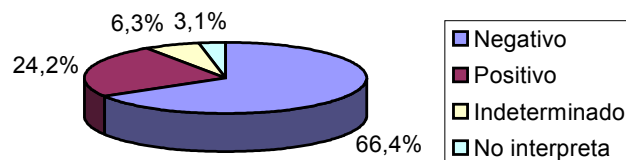


Figura 1. Resultados IgG frente a *C. pneumoniae*

Por lo que respecta a los métodos empleados y como se puede observar en la tabla 1, las técnicas de inmunofluorescencia (IFA) e enzimoanálisis convencional (EIA), fueron las empleadas mayoritariamente, con porcentajes del 60,2% y 35,2%, respectivamente. El centro que realizó las dos determinaciones, empleó una técnica EIA y otra de IFA de casas comerciales distintas, con resultado negativo en ambos casos. Cabe destacar, el escaso número de participantes que no aportaron información acerca de la técnica empleada.

Tabla 1. Detección de anticuerpos IgG anti-*C. pneumoniae* según método empleado.

Método	Negativo	Positivo	Indeterm.	No interp	Total	
					Número	%
IFA	56	15	3	3	77	60,2
EIA	24	15	5	1	45	35,2
FC	3	—	—	—	3	2,3
No informa	2	1	—	—	3	2,3
Total	85	31	8	4	128	100,0

FC: fijación de complemento. Resto de abreviaturas en el texto.

Por lo que se refiere a la valoración cuantitativa de los resultados, de los 56 centros que aportaron un resultado negativo empleando como método la IFA, fueron 27 (48,2%) los que informaron la titulación obtenida, un 70,2% de los cuales informó títulos entre 1/16 y <1/64 coincidente con el laboratorio de referencia.

Haciendo una revisión general de las marcas comerciales empleadas, se puede observar en la tabla 2 una gran variedad de las mismas, aunque con predominio de los reactivos de Vircell, Savyon y Focus con porcentajes del 29,7% para el primero y 13,3% para los otros dos. Cabe destacar el gran número de centros (14,8%) que no informaron acerca de la marca comercial empleada, sin duda debido a que muchos de ellos remitieron la muestra a un laboratorio externo.

Tabla 2. Anticuerpos IgG anti- *C. pneumoniae* según marca comercial.

Equipo comercial	Negativo	Positivo	Indeterm.	No interpreta	Total	
					Número	%
Vircell	17	19	2	—	38	29,7
No informa	16	2	—	1	19	14,8
Savyon	15	1	1	—	17	13,3
Focus	11	3	1	2	17	13,3
Euroimmun	7	1	—	—	8	6,3
Innogenetics	3	1	—	1	5	3,9
Vitro	3	1	—	—	4	3,1
MRL	3	—	—	—	3	2,3
Medac® (BioRad)	1	—	2	—	3	2,3
AniLabsystem	1	1	—	—	2	1,6
Novatec	1	—	1	—	2	1,6
Trinity Biotech	2	—	—	—	2	1,6
Virion	2	—	—	—	2	1,6
Otros	3	2	1	—	6	4,6
Total	85	31	8	4	128	100,0

Llama la atención el considerable número de centros que obtuvieron un resultado positivo discrepante con el centro de referencia. Si se analizan el método y marca comercial empleados en estos casos, podemos ver que un porcentaje importante de los centros que aportaron un resultado positivo, emplearon una técnica EIA de Vircell, mientras que la mayoría de los laboratorios que usaron un método IFA, incluso de la misma casa comercial, obtuvieron un resultado negativo. Es decir, 19 de los 31 resultados positivos informados en total, correspondían a esa marca, y de ellos 13 fueron realizados mediante EIA, mientras que de los 17 resultados negativos con esta marca, 16 emplearon un método IFA. La explicación a esta discordancia de resultados podría ser la mayor sensibilidad del EIA como técnica de cribado. De hecho, la existencia de fluorescencia con diluciones de 1/16 indica la presencia de anticuerpos aunque sea a muy bajo nivel, pero teniendo siempre presente que dicho título debe informarse como negativo. Además, hay que tener en cuenta que el método de EIA emplea un antígeno purificado y la técnica de IFA antígenos completos, lo cual también puede inducir una discrepancia de resultados, especialmente en sueros con títulos bajos.

Prueba de detección de anticuerpos de tipo IgM

Esta prueba fue realizada por 104 participantes (68,4%) de los 152 que remitieron hoja de respuesta con resultados valorables. De ellas, 96 (92,3%) realizaron también la prueba de detección de anticuerpos de tipo IgG. En cuanto a la valoración cualitativa de los datos, la gran mayoría de centros (97,1%) obtuvieron un resultado negativo concordante con el centro de referencia. Tan sólo dos centros (1,9%) informaron un resultado positivo y otro (1,0%) un resultado positivo débil empleando en dos casos el EIA y en el restante la IFA.

Tabla 3. Detección de anticuerpos IgM anti-*C. pneumoniae* según método.

Método	Negativo	Positivo	Positivo débil	Total	
				Número	%
IFA	54	1	—	55	52,9
EIA	44	1	1	46	44,2
No informa	3	—	—	3	2,9
Total	101	2	1	104	100,0

Como se puede observar en la tabla 3, las técnicas empleadas para la determinación de este marcador fueron únicamente IFA y EIA, con porcentajes del 52,9% y 44,2% respectivamente. Un escaso número de participantes no informaron acerca del método empleado. En esta ocasión, no existe una disparidad de resultados cualitativos que permita hacer un análisis comparativo de las distintas técnicas empleadas.

Tabla 4. Detección de anticuerpos IgM anti- *C. pneumoniae* según marca comercial.

Equipo comercial	Negativo	Positivo	Positivo débil	Total	
				Número	%
Vircell	31	2	—	33	31,7
No informa	17	—	—	17	16,3
Savyon	13	—	—	13	12,5
Focus	11	—	—	11	10,6
Euroimmun	8	—	—	8	7,7
Medac (BioRad)	5	—	—	5	4,8
Innogenetics	3	—	—	3	2,9
Vitro	3	—	—	3	2,9
MRL	2	—	—	2	1,9
AnilabSystem	2	—	—	2	1,9
Novatec	1	—	1	2	1,9
Otros	5	—	—	5	4,8
Total	101	2	1	104	100,0

En cuanto a las marcas comerciales, continúa como en el caso del anterior, a pesar de la diversidad, la preponderancia de los reactivos de Vircell (31,7%), seguido de Savyon (12,5%) y Focus (10,6%). Llama la atención, el elevado número de centros (16,3%) que no aporta información acerca de este dato, lo que puede explicarse si tenemos en cuenta que un número considerable de participantes debieron recurrir a un laboratorio externo, del mismo modo que ocurría con el anterior marcador. Todos estos datos están reflejados en la tabla 4.

Finalmente, cabe comentar que hubo tres centros que realizaron una detección de anticuerpos totales frente a *C. pneumoniae*, obteniendo en los tres casos un resultado negativo. Emplearon para ello tres métodos distintos: EIA (Medac® Bio-Rad), inmunofluorescencia (Vircell) y fijación de complemento (no informó marca). Un centro realizó una detección de anticuerpos de tipo IgA frente a *C. pneumoniae* obteniendo un resultado negativo y usando para ello una técnica de enzimoanálisis de AniLabsystem.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A *Mycoplasma pneumoniae*

Prueba de detección de anticuerpos de tipo IgG

La prueba de detección de anticuerpos de tipo IgG frente a *M. pneumoniae* fue realizada por 103 laboratorios (67,8%) de los 152 que remitieron hoja de respuesta con resultados analizables. Por lo que se refiere a la valoración cualitativa, como se observa en la figura 2, existe amplia variedad de resultados, de modo que fueron 54 centros (52,4%) los que informaron un resultado positivo coincidente con el laboratorio de referencia, tres (2,9%) aportaron un resultado positivo débil, ocho participantes (7,8%) indeterminado y dos (1,9%) no interpretaron el valor cuantitativo. Llama la atención, que 36 centros (35,0%) aportaron un resultado negativo discrepante con el laboratorio de referencia.

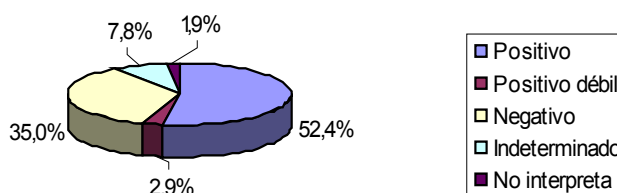


Figura 2. Resultados IgG frente a *M. pneumoniae*

Como se puede observar en la tabla 5, el método mayoritariamente empleado fue el EIA, con el que se obtuvieron en un 60,5% de los casos, resultados positivos, concordantes con el laboratorio de referencia. Con la IFA, el porcentaje de resultados discrepantes fue del 69,2%. En el caso de la fijación de complemento, y a pesar que el número absoluto de casos es pequeño, se advierte una notable disparidad de resultados. Finalmente, un escaso número de participantes, no informó acerca de la técnica empleada. Los dos participantes que emplearon un método de aglutinación no informaron marca, pero probablemente utilizaron un equipo de detección de anticuerpos totales frente a *M. pneumoniae*.

Tabla 5. Detección de anticuerpos IgG anti-*M. pneumoniae* según método.

Método	Positivo ^a N (%) ^b	Negativo N (%) ^b	Indeterm. N (%) ^b	No interpr. N (%) ^b	Total	
					Número	%
EIA	46 (60,5)	22 (28,9)	8 (10,5)	—	76	73,8
IFA	3 (23,1)	9 (69,2)	—	1 (7,7)	13	12,6
FC	5 (55,6)	4 (44,4)	—	—	9	8,7
Aglutinación	1 (50,0)	—	—	1 (50,0)	2	1,9
No informa	2 (66,7)	1 (33,3)	—	—	3	2,9
Total	57 (55,3)	36 (35,0)	8 (7,8)	2 (1,9)	103	100,0

^aQuedan incluidos los tres participantes que aportaron un resultado Positivo débil.

^bPorcentajes referentes al total de pruebas realizadas con cada método.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, al igual que en otras determinaciones, existe gran diversidad, aunque puede apreciarse un predominio de los reactivos de Vircell, Virion/Serion y Trinity Biotech con porcentajes del 37,9%, 12,6% y 10,7% respectivamente. Cabe destacar el elevado porcentaje de centros (15,5%) que no informaron acerca de la marca comercial empleada. Estos datos quedan reflejados en la tabla 6.

Tabla 6. Detección de anticuerpos IgG anti- *M. pneumoniae* según marca comercial.

Equipo comercial	Positivo ^a	Negativo	Indeterm	No interpreta	Total	
					Número	%
Vircell	20	14	5	—	39	37,9
No informa	6	8	1	1	16	15,5
Virion/Serion	9	2	2	—	13	12,6
Trinity Biotech	10	1	—	—	11	10,7
Innogenetics	2	2	—	1	5	4,9
Wampole	4	—	—	—	4	3,9
Savyon	—	3	—	—	3	2,9
Ral	1	1	—	—	2	1,9
Triturus	1	1	—	—	2	1,9
Virotech	—	2	—	—	2	1,9
Otros	4	2	—	—	6	5,8
Total	57	36	8	2	103	100,0

^aQuedan incluidos los tres participantes que aportaron un resultado Positivo débil.

Prueba de detección de anticuerpos de tipo IgM

Esta prueba fue realizada por 107 participantes (70,4%) de los 152 que remitieron hoja de respuesta con resultados valorables. De ellos, 87 (81,3%) realizaron también la determinación de anticuerpo de tipo IgG. Por lo que respecta a los resultados cualitativos obtenidos, 85 centros (79,4%) aportaron un resultado positivo coincidente con el centro de referencia, uno (0,9%) informó un resultado positivo débil y 21 centros (19,7%) aportaron un resultado negativo discordante.

En cuanto a los métodos empleados en esta determinación, el EIA fue la técnica mayoritariamente empleada (78,5%), seguida de la IFA con un porcentaje de utilización mucho menor (14,0%). Con la primera de las técnicas, se obtuvo un elevado índice de aciertos, mientras que con la IFA se obtuvieron mayoritariamente resultados negativos discordantes. Finalmente, resta comentar que un pequeño número de participantes no informaron acerca del método empleado. Todos estos datos, quedan resumidos en la tabla 7.

Tabla 7. Detección de anticuerpos IgM anti-*M. pneumoniae* según método.

Método ^a	Positivo N (%) ^b	Negativo N (%) ^a	Pos. débil N (%)	Total	
				Número	%
EIA	75 (89,3)	8 (9,5)	1 (1,2)	84	78,5
IFA	3 (20,0)	12 (80,0)	—	15	14,0
No informa	3 (75,0)	1 (25,0)	—	4	3,7
IC	2 (100,0)	—	—	2	1,9
FC	2 (100,0)	—	—	2	1,9
Total	85 (79,4)	21 (19,6)	1 (0,9)	107	100,0

^aIC: Inmunocromatografía. Resto de abreviaturas en el texto.

^bPorcentajes referentes al total de pruebas realizadas con cada método.

Como se puede observar en la tabla 8, en lo referente a las marcas comerciales empleadas, existe como en el caso del anterior, una gran variedad, con predominio de reactivos de Vircell (36,5%), seguido de Savyon (15,9%) y Virion/Serion (9,3%). En este caso, los resultados negativos discordantes quedan distribuidos entre las diferentes

equipos empleados, sin que exista una preponderancia de uno u otro. Llama la atención, el elevado número de centros (16,3%) que no aporta información acerca de la marca comercial empleada, lo que en parte es indicativo del considerable porcentaje de participantes que recurrieron a un laboratorio externo para la detección de este marcador.

Tabla 8. Detección de anticuerpos IgM anti- *M. pneumoniae* según marca comercial.

Equipo comercial	Positivo	Negativo	Positivo débil	Total	
				Número	%
Vircell	30	9	—	39	36,5
Savyon	16	1	—	17	15,9
Virion/Serion	10	—	—	10	9,3
Meridian	8	—	1	9	8,4
Bio-Rad	3	—	—	3	2,8
Innogenetics	2	1	—	3	2,8
Virotech	1	1	—	2	1,9
Otros	7	3	—	10	9,3
No informa	8	6	—	14	13,1
Total	85	21	1	107	100,0

Hubo dos centros que realizaron la detección de anticuerpos de clase IgA frente a *M. pneumoniae*. Uno de ellos realizó esta detección mediante un EIA de Virion/Serion, obteniendo un resultado negativo. Este mismo participante, obtuvo resultados concordantes con el laboratorio de referencia en cuanto a la determinación de IgG e IgM frente a *M. pneumoniae*. El otro centro realizó la detección de IgA mediante un EIA de AniLabSystem, obteniendo un resultado positivo; las determinaciones de anticuerpos de clase IgG e IgM que dicho participante hizo empleando el mismo método y marca comercial, fueron concordantes con el laboratorio de referencia.

Prueba de detección de anticuerpos totales frente a *Mycoplasma pneumoniae*

La prueba de detección de anticuerpos totales anti-*M. pneumoniae* fue realizada por 28 laboratorios. Es importante puntualizar que nueve de ellos indicaron que se trataba de una detección de IgG y dos de una detección de anticuerpos de tipo IgM, por lo que desde el Control de Calidad se insiste en la importancia de consignar perfectamente los datos para facilitar el análisis de los mismos.

De estos 28 centros tan sólo uno informó un resultado negativo discrepante y los 27 restantes aportaron un resultado positivo. Fueron 25 centros, los que emplearon un método de aglutinación de FujireBio® INC y tres los que indicaron haber empleado una técnica de fijación de complemento, de Dade-Behring en uno de los casos y sin informar marca en los otros dos.

USO DE LABORATORIO EXTERNO Y CAPACITACIÓN TÉCNICA

Por lo que se refiere a la utilización del laboratorio externo, de los 152 laboratorios que enviaron hoja de respuesta con resultados valorables, 108 (71,1%) señalaron que no lo habían utilizado, 29 centros (19,1%) afirmaron haberlo requerido y tres participantes (1,9%) lo hicieron parcialmente. Un número no despreciable, 12 centros (7,9%), no aportó información alguna sobre este dato, por lo que desde el Programa de Control de Calidad se sigue insistiendo en la importancia de consignar adecuadamente los datos requeridos en las hojas de respuesta para que se pueda hacer un análisis veraz.

En general, se puede concluir que el número de laboratorios que disponen de los recursos técnicos y reactivos necesarios para realizar estos marcadores es bastante más reducido que en otras ocasiones, debiendo recurrir muchos de ellos a laboratorios externos.

COMENTARIOS

En total son 74 (48,7%) los participantes que realizaron algún tipo de comentario sobre el caso clínico que nos ocupa o la interpretación de los resultados, del total de 152 laboratorios que remitieron hoja de respuesta con resultados valorables. En la tabla 9 quedan resumidos los comentarios hechos por los participantes. Muchos de ellos han debido ser simplificados, con el fin de que pudiera hacerse una exposición clara y concisa de los mismos.

Cabe destacar los numerosos centros que, de forma explícita y a la vista de la historia remitida y los resultados obtenidos, afirmaron que se trataba de una infección/neumonía aguda por *Mycoplasma pneumoniae*. En otros tantos casos apuntan dicha posibilidad, remarcando en muchas ocasiones la importancia de valorar una posible seroconversión. De hecho, uno de los comentarios más frecuentes en cuanto a las consideraciones aportadas por los participantes es la conveniencia de repetir la serología en un plazo de dos semanas, para poder valorar una modificación de los títulos de anticuerpos. Incluso en algunos casos, y a pesar de apuntar que se trata de una infección por *M. pneumoniae*, indican la conveniencia de valorar seroconversión de los anticuerpos frente a *C. pneumoniae*.

Tan sólo uno de los participantes dio indicaciones sobre el tratamiento, apuntando que el fármaco a elegir sería la azitromicina a dosis de 500 mg/día durante tres días, y otro centro indicó la conveniencia de aislar al enfermo.

Fueron tres los centros que comentaron que la muestra enviada era insuficiente y otros tantos informaban que no disponían en su laboratorio de reactivos para realizar todos los marcadores que se pedía en la historia clínica.

Tabla 9. Comentarios realizados por los participantes.

Comentario	Número
Infección aguda por <i>M. pneumoniae</i>	14
Valorar seroconversión en dos semanas	13
Infección aguda por <i>M. pneumoniae</i> . Valorar seroconversión en dos semanas	6
Neumonía por <i>M. pneumoniae</i>	5
Infección por <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	3
Posible infección respiratoria por <i>M. pneumoniae</i>	3
Infección por <i>C. pneumoniae</i>	3
Infección por <i>M. pneumoniae</i> . Valorar seroconversión anti- <i>C. pneumoniae</i>	3
Neumonía aguda por <i>M. pneumoniae</i>	2
Valorar seroconversión de anticuerpos anti- <i>C. pneumoniae</i>	2
Neumonía atípica por <i>M. pneumoniae</i>	2
Posible infección por <i>M. pneumoniae</i> . Valorar seroconversión	2
Determinación IgM/IgG en sueros pareados	2
Infección subaguda por <i>M. pneumoniae</i>	1
Posible infección aguda por <i>M. pneumoniae</i>	1
Posible neumonía por <i>M. pneumoniae</i> . Valorar seroconversión	1
Posible infección por <i>M. pneumoniae</i> . Tratamiento: azitromicina 500 mg/d, 3 d	1
Aplicar medidas de aislamiento	1
Muestra insuficiente	3
No se dispone de reactivos para resto de marcadores	3
Nota del Control: Resto de determinaciones no son requeridas	6

Finalmente, cabe aclarar que seis de las hojas de respuesta con resultados valorables informaban de los resultados de detección de una serie de marcadores que no se pedían en el control, por lo que no fueron transcritos para facilitar el análisis de los datos.