

# Análisis de resultados del Programa Externo de Control de Calidad SEIMC de carga viral del VIH-1 y del VHC. Año 2007

Nieves Orta Mira<sup>ab</sup>, María del Remedio Guna Serrano<sup>ac</sup>, José-Carlos Latorre Martínez<sup>d</sup>, María Rosario Ovies<sup>a</sup>, José L. Pérez<sup>ae</sup> y Concepción Gimeno Cardona<sup>ac,f</sup>

<sup>a</sup>Programa Externo de Control de Calidad SEIMC.

<sup>b</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Francesc de Borja. Gandía. Valencia. España.

<sup>c</sup>Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario. Valencia. España.

<sup>d</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario. Valencia. España.

<sup>e</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. España.

<sup>f</sup>Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. Valencia. España.

**FUNDAMENTOS.** La determinación de la carga viral de los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y de la hepatitis C (VHC) constituye una labor primordial del laboratorio de microbiología molecular, por su valor pronóstico y como guía en el tratamiento. Es crucial que el laboratorio disponga de herramientas para garantizar la fiabilidad de sus resultados. Se presentan el análisis del Programa de Control de Calidad SEIMC de carga viral de ambos virus remitido durante el año 2007.

**MÉTODOS Y RESULTADOS.** En el control de VIH se remitieron 5 estándares, de los que uno (plasma humano seronegativo) no contenía el virus, y los otros consistían en plasma de 3 pacientes víremicos distintos en un intervalo de concentraciones de 2-5 log<sub>10</sub> copias/ml; 2 de ellos eran idénticos, con el fin de analizar la repetitividad. La especificidad fue buena por todos los métodos comerciales, y sólo 2 de 75 resultados fueron falsos positivos. Una parte importante de los laboratorios obtuvo resultados fuera de límites (media ± 0,2 log<sub>10</sub> copias/ml), dependiendo del estándar y del método empleado, en promedio el 20%. Se detectaron errores atribuibles a la transcripción de los resultados analíticos. La repetitividad también fue aceptable, pero en torno al 15% de los laboratorios no superó esta evaluación. En el control de VHC se remitieron 2 estándares con diferente contenido del virus. La mayor parte de los participantes (94,6%) obtuvo resultados dentro de los límites de la media ± 1,96 DE log<sub>10</sub> UI/ml, y la variabilidad interlaboratorio fue inferior a 0,5 unidades logarítmicas para ambos estándares y con los distintos métodos.

**CONCLUSIONES.** Estos resultados refuerzan la utilidad de los controles externos para asegurar la calidad de los resultados analíticos, incluyendo la fase postanalítica. Debido a la notable variabilidad interlaboratorio, es

aconsejable utilizar un mismo método y el mismo laboratorio en el seguimiento de los pacientes.

**Palabras clave:** VHC. VIH-1. Carga viral. Control de calidad externo. Intercomparación.

Analysis of the results of the SEIMC External Quality Control Program for HIV-1 and HCV viral loads, 2007

**BACKGROUND.** Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and hepatitis C virus (HCV) viral load determinations are among the most important tasks performed in the molecular microbiology laboratory, due to their importance in patient follow-up. Quality control tools are crucial in these laboratories to ensure the accuracy of the results. This article presents the analysis of the results obtained in 2007 from the SEIMC External Quality Control Program for HIV-1 and HCV viral loads.

**METHODS AND RESULTS.** In the HIV-1 program, a total of five standards were sent. One standard consisted of seronegative human plasma, while the remaining four contained plasma from three different viremic patients, in a range of 2-5 log<sub>10</sub> copies/mL; to analyze repeatability, two of these standards were identical. The specificity was good for all the methods used by the participants, and only two out of 75 results were considered to be false positive results. A substantial proportion of the laboratories (20% on average) obtained values outside the accepted range (mean ± 0.2 log<sub>10</sub> copies/mL), depending on the standard and on the method used for quantification. A few errors were due to the transcription of the analytical result. Repeatability was also acceptable but approximately 15% of laboratories failed this evaluation. The HCV program consisted of two standards with different viral load contents. Most of the participants (94.6%) obtained results within the accepted range (mean ± 1.96 SD log<sub>10</sub> UI/mL), and interlaboratory variability was <0.5 log units for both standards and all techniques.

**CONCLUSIONS.** Data from this analysis reinforce the utility of proficiency programs to ensure the quality of the results obtained by a particular laboratory, as well as the

Correspondencia: Dr. J.L. Pérez.  
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Son Dureta.  
Andrea Doria, 55. 07014 Palma de Mallorca. España.  
Correo electrónico: jlperez@hdsd.es

**importance of the post-analytical phase in overall quality. Due to wide interlaboratory variability, the use of the same method and the same laboratory for patient follow-up is advisable.**

**Key words: HCV. HIV-1. Viral load. External Quality Control. Proficiency.**

## Introducción

La determinación cuantitativa de genoma (carga viral) de los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y de la hepatitis C (VHC) constituye una de las funciones primordiales en el laboratorio de microbiología molecular, por su valor pronóstico, como guía para el inicio del tratamiento y para monitorizar su respuesta. Por razones de eficiencia, los laboratorios utilizan mayoritariamente con este fin diferentes sistemas comerciales, cada uno de los cuales con unas características propias, pero cuya eficacia diagnóstica es difícil de evaluar con la sola experiencia de cada laboratorio.

Desde 2006, el Programa de Control de Calidad de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) dispone de un control de calidad externo dedicado a la cuantificación del VIH-1 y del VHC, como un servicio directo a los asociados que desarrollan su actividad en el laboratorio e, indirectamente, a los clínicos que atienden a los pacientes infectados por esos virus. En este artículo se resumen las principales conclusiones y enseñanzas derivadas del análisis conjunto de los resultados remitidos por los participantes.

## Control de calidad del VIH-1

### Características del material remitido

En el control de 2007 se remitió a los participantes 5 estándares de plasma congelado, denominados VIH-1/07 a VIH-5/07, que habían sido analizados y valorados para el contenido en ARN del VIH-1. Cuatro de ellos contenían cantidades conocidas de ARN, y fueron obtenidos de plasma procedente de 3 pacientes virémicos distintos, buscando contenidos teóricos dentro de un intervalo de 2-5 unidades logarítmicas. Los estándares VIH-3/07 y VIH-4/07 eran idénticos, y estaban destinados a analizar la re-

petitividad intralaboratorio. El quinto estándar (VIH-5/07) se preparó con el mismo plasma seronegativo utilizado para la dilución. Las muestras se analizaron por triplicado en diferentes laboratorios por los métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) *real time* de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]) y de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott), PCR competitiva convencional de Roche Diagnostics (Cobas Amplicor® Monitor HIV-1 [Cobas-Amplicor]), amplificación basada en la secuencia de ácidos nucleicos (Nuclisens® bioMérieux [NASBA-RT]), amplificación de señal bDNA de Siemens Diagnostics (Versant® HIV-1 [bDNA Siemens]), tal como se muestra en la tabla 1, quienes confirmaron los valores teóricos. Una vez preparados los estándares se mantuvieron congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su envío a los participantes, que se realizó con nieve carbónica y asegurando entregas en menos de 24 h.

### Criterios de evaluación

En la presente edición del control de calidad de carga viral VIH-1 se perseguían diversos objetivos derivados del diseño de los estándares. Por una parte, se buscaba demostrar la especificidad de las determinaciones, para lo que se contaba con el estándar VIH-5/07 como control negativo (plasma seronegativo). En este caso se consideraron válidos los resultados informados por debajo del límite de detección de la técnica utilizada por cada participante y, cualquier cuantificación obtenida, un falso positivo.

Los estándares VIH-1/07 y VIH-2/07 se analizaron de forma cuantitativa, estableciéndose como valor central la media de los valores obtenidos por todos los participantes que utilizaban un determinado método, expresados todos en  $\log_{10}$  copias ARN/ml. En todos los casos se eliminaron los valores aberrantes para el cálculo de la media, siguiendo los criterios de Chauvenet<sup>1</sup>. El criterio de aceptación se fijó en la media  $\pm 0,2 \log_{10}$ , ya que ésta ha sido la variabilidad técnica obtenida en estudios previos<sup>2</sup>. Para los estándares VIH-3/07 y VIH-4/07 que, como se ha indicado, eran idénticos, se calculó la media de todos los valores reportados para ambos estándares por todos los participantes, y se aceptó el mismo intervalo señalado anteriormente. Sin embargo, esto sólo fue posible con los métodos PCR-RT Roche y PCR-RT Abbott. En los métodos bDNA Siemens (límite de detección teórico: 50 copias ARN/ml), NASBA RT (límite de detección teórico: 40 copias ARN/ml) y Cobas Amplicor en formato convencional (límite de detección teórico: 200 copias ARN/ml), la mayor parte de participantes obtuvo un valor por debajo de sus respectivos límites, por lo que el valor de referencia

**TABLA 1. Control del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1): resultados de los laboratorios de referencia (LR) para cada estándar y técnica**

Estándar	PCR-RT Abbott (LR-A)		b-DNA Bayer (LR-B)		PCR-RT Taqman Roche (LR-C)		Cobas-Amplicor Roche (LR-C)	
	Copias/ml	Log <sub>10</sub>	Copias/ml	Log <sub>10</sub>	Copias/ml	Log <sub>10</sub>	Copias/ml	Log <sub>10</sub>
VIH-1/07	425.424	5,63	160.842	5,21	330.329	5,52	488.667	5,69
VIH-2/07	30.192	4,48	13.860	4,14	31.891	4,50	31.333	4,50
VIH-3/07	127	2,10	Indetectable	–	144	2,16	26	1,74
VIH-4/07	137	2,14	Indetectable	–	161	2,21	55	1,41
VIH-5/07	Indetectable	–	Indetectable	–	Indetectable	–	Indetectable	–

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

fue el de "indetectable". Por último, para el método Cobas-Amplicor Ultrasensible (límite de detección teórico: 20 copias ARN/ml) se obtuvieron tantos valores cuantificables como indetectables, por lo que, dado que la muestra contenía ARN del virus, se consideró como valor de referencia la media de los resultados cuantificados por los participantes para ambos estándares.

Los resultados obtenidos con los estándares VIH-3/07 y VIH-4/07 se utilizaron también para evaluar la reproducibilidad de los resultados obtenidos por cada participante. En esta ocasión se calculó el diferencial en números absolutos ( $\Delta$ ) entre los valores de ambos estándares, expresados en unidades logarítmicas. Se consideró aceptable cuando el diferencial fue  $< 0,5$  unidades logarítmicas, valor que tiene en cuenta tanto la variabilidad técnica<sup>2</sup> como la biológica y que, en la práctica, es el que se utiliza en el seguimiento de los pacientes para considerar que se ha producido un cambio significativo de la carga viral con fines pronósticos, o para el control de la eficacia del tratamiento.

## Resultados del control del VIH-1

Se envió el material de control a 78 participantes, de los que 75 remitieron respuesta (96,1%). El método más habitual fue la PCR-RT Roche (n = 53; 70,7%), seguido por Cobas Amplicor (n = 10, 13,3%); 5 participantes utilizaron NASBA-RT, 4 bDNA-Siemens y 3 PCR-RT Abbott.

En la tabla 2 se resumen los datos por los distintos métodos comerciales. Desde el punto de vista de especificidad, los resultados fueron buenos, y sólo hubo 2 partici-

pantes, uno mediante PCR-RT Roche y otro por el método bDNA Siemens, que detectaron genoma de VIH-1 en el estándar VIH-5/07 y, en uno de ellos, probablemente se trató de un error de transcripción. Como era de esperar, se observó que la variabilidad aumentó conforme descendía el contenido en virus (no se muestran datos de desviación estándar [DE]), por lo que la mayor parte de resultados fuera del intervalo aceptable se obtuvieron para los estándares con contenido crítico (VIH-3/07 y VIH-4/07). Asimismo, en la tabla 2 se puede intuir una notable variabilidad intermétodo, que se confirma cuando se analizan los resultados individuales de los participantes (no se muestran), de modo que los valores obtenidos con el mismo estándar utilizando 2 métodos no son siempre comparables. Estos resultados, en su conjunto, son similares a los obtenidos en el programa SEIMC del año 2006<sup>3</sup>.

Cuando se aplican los criterios más estrictos de  $\pm 0,2 \log_{10}$  establecidos para la variabilidad metodológica<sup>2-4</sup>, se observan notables diferencias y desviaciones. Ninguna de las técnicas está libre de resultados fuera de límite. En general, los métodos basados en la amplificación tienden a mostrar mayor variabilidad. Esto es más visible con el método Cobas-Amplicor Ultrasensible y con los estándares críticos (VIH-3/07 y 4/07), en donde sólo la mitad de los valores son cuantificables y con valores que oscilaban entre 31 y 425 copias/ml. En el caso de NASBA RT y bDNA Siemens, no es posible analizar la variabilidad en estos estándares críticos, ya que la mayor parte de los valores aportados por los participantes fueron indetectables. Asumiendo que los valores teóricos eran superiores al límite de detección declarado por sus fabricantes, parece desprenderse que ambos métodos tienden a la sub-

TABLA 2. Control del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado

	Estándar				
	VIH-1/07	VIH-2/07	VIH-3/07	VIH-4/07	VIH-5/07
<b>TaqMan® Roche</b>					
Media $\log_{10}$ <sup>a</sup>	5,36	4,46	2,09	2,13	Indetectable
Límites aceptables <sup>b</sup>	5,16-5,56	4,26-4,66	1,89-2,33	1,89-2,33	Indetectable
Dentro de límites	43/53	43/53	38/53	38/53	51/52
<b>Cobas-Amplicor® Roche</b>					
Media $\log_{10}$ <sup>a</sup>					
Convencional	5,69	4,63	Indetectable	Indetectable	Indetectable
Ultrasensible	5,69	4,63	1,92	1,92	Indetectable
Límites aceptables <sup>b</sup>					
Convencional	5,49-5,89	4,43-4,83	Indetectable	Indetectable	Indetectable
Ultrasensible	5,49-5,89	4,43-4,83	1,72-2,12	1,72-2,12	Indetectable
Dentro de límites	7/10	8/10	4/10	5/10	10/10
<b>Nuclisens®-RT bioMérieux</b>					
Media $\log_{10}$ <sup>a</sup>	5,66	4,62	Indetectable <sup>c</sup>	Indetectable <sup>c</sup>	Indetectable
Límites aceptables <sup>b</sup>	5,46-5,86	4,42-4,82	Indetectable <sup>c</sup>	Indetectable <sup>c</sup>	Indetectable
Dentro de límites	4/5	4/5	5/5	3/5	5/5
<b>bDNA Versant® Siemens</b>					
Media $\log_{10}$ <sup>a</sup>	5,18	4,12	Indetectable <sup>c</sup>	Indetectable <sup>c</sup>	Indetectable
Límites aceptables <sup>b</sup>	4,95-5,35	3,56-3,96	Indetectable <sup>c</sup>	Indetectable <sup>c</sup>	Indetectable
Dentro de límites	4/5	4/5	5/5	4/5	5/5
<b>PCR-RT Abbott</b>					
Media $\log_{10}$ <sup>a</sup>	5,65	4,49	2,18	2,11	Indetectable
Límites aceptables <sup>b</sup>	5,45-5,85	4,29-4,69	1,98-2,38	1,91-2,31	Indetectable
Dentro de límites	3/3	3/3	2/3	3/3	3/3

<sup>a</sup>Se calculó sobre cada método, excluyendo los valores aberrantes<sup>1</sup>.

<sup>b</sup>Media  $\pm 0,2 \log_{10}$  copias/ml, excepto en los estándares VIH-3/07 y VIH-4/07 (v. texto).

<sup>c</sup>Se tomó como referencia el valor modal de los resultados aportados por los participantes.

TABLA 3. Resumen del estudio de repetitividad

Valor ( $\log_{10}$ copias ARN/ml)	
Medio	0,27
Mínimo	0,01
Máximo	1,11
Aceptabilidad (número)	
Dentro de límites	59
Fuera de límites	10
No valorables	6

cuantificación en este rango de bajo contenido. Por el contrario, estas 2 técnicas se comportaron como las más robustas para los estándares con contenidos teóricos superiores a  $3 \log_{10}$  de ARN viral. En cuanto a los métodos de PCR RT, el comercializado por Roche (Taqman<sup>®</sup>) obtiene un 20,4% de resultados fuera de límite de aceptación. Con la técnica PCR-RT Abbott sólo hay un 6,7% (el porcentaje más bajo), pero hay que tener en cuenta el bajo número de participantes que la utilizaron. En el conjunto de todos los participantes, la concordancia se sitúa en el 79,5%, pero hubo 2 participantes que sólo acertaron con el estándar VIH-5/07 (control negativo).

Los resultados del estudio de repetitividad se resumen en la tabla 3. La mayor parte de los participantes ( $n = 59$ ; 78,7%) obtuvieron resultados reproducibles ( $\Delta < 0,5 \log_{10}$ ), pero se debe resaltar que una parte no despreciable no lo consiguió (13,3%), y que algunos de los participantes en los que no puede valorarse esta característica obtienen, presumiblemente, resultados discordantes. Aunque el valor medio de  $\Delta$  se sitúa en  $0,27 \log_{10}$ , hubo un participante en el que este valor fue de  $1,11 \log_{10}$ , esto es, los valores en copias diferían entre sí en un factor de 13, aproximadamente.

### Comentarios y conclusiones al control del VIH-1

En términos generales, estos resultados ilustran acerca de la variabilidad que, en el día a día, se puede obtener en nuestros laboratorios en una prueba de la indudable trascendencia como es la carga viral del VIH-1. Incluso eliminando los resultados aberrantes, cuando se analiza la variabilidad intermétodo, ésta se aproxima, y en ocasiones la supera, a las 0,5 unidades logarítmicas, el valor límite usado en clínica para establecer un cambio significativo de carga viral, lo que refuerza la conveniencia de no cambiar de laboratorio en el seguimiento habitual de los pacientes<sup>5</sup>. De todos los métodos analizados, el que parece mostrar una tendencia mayor a la subcuantificación es bDNA Siemens, a reservas del bajo número de participantes que aportaron resultados por esta técnica. Además, los estándares con contenido crítico en ARN fueron informados mayoritariamente como indetectables por los usuarios de este método. Por otra parte, los métodos de PCR RT, tanto Roche como Abbott, fueron los que mostraron mayor sensibilidad, detectando ARN del virus en la mayor parte de las ocasiones en los estándares de baja carga viral.

Como era de esperar, los controles de menor contenido son los más sujetos a variabilidad, con independencia del método usado, si bien hay algunos que muestran una menor consistencia de los resultados. Es importante señalar que, en torno al 20% del total de resultados aportados por los participantes, se situaron fuera del intervalo acepta-

ble de  $\pm 0,2 \log_{10}$  alrededor de la media. Aunque la mayor experiencia es con la técnica PCR RT Roche, en todos los métodos y con todos los estándares se aprecia la misma tendencia. Más aún, la observación de los resultados individuales muestra diferencias importantes entre laboratorios que utilizan un mismo método y, aunque la variabilidad intralaboratorio no se puede calcular con precisión a partir del diseño del presente control, todo apunta a la conveniencia de seguir a los pacientes no sólo con la misma técnica, sino también en el mismo laboratorio.

Respecto a los métodos, es difícil obtener conclusiones muy firmes cuando se comparan entre sí, dado el bajo número de participantes en algunos de ellos. Los métodos de NASBA-RT y bDNA parecen más robustos que los basados en la PCR, especialmente para los estándares con contenidos teóricos por encima de las 1.000 copias ARN/ml. Por el contrario, el método de Cobas-Amplicor es el que muestra mayor variabilidad, y tampoco es despreciable en la PCR RT Roche, en donde el número de participantes es elevado y, en consecuencia, los porcentajes obtenidos, más representativos. Estos resultados son coherentes con los aportados por la literatura y con otros programas de control externo llevados a cabo dentro y fuera de nuestro país<sup>3-6</sup>.

En el presente control se introdujeron 2 muestras idénticas con el fin de evaluar la reproducibilidad de los resultados de un determinado laboratorio. Los datos obtenidos son razonablemente buenos, con una diferencia media de  $0,27 \log_{10}$ , un margen de error aceptable desde el punto de vista del seguimiento clínico de los pacientes infectados con el VIH-1. Sin embargo, se debe señalar que en torno al 15% de los laboratorios no superan esta prueba, y que algunos de ellos muestran una diferencia en los valores obtenidos que llegan a ser más de 13 veces mayor. Todos los métodos comerciales analizados están sujetos a este problema, aunque no es posible concretar si alguno de ellos se ve más afectado, debido al bajo número de efectivos y a que los estándares VIH-3/07 y 4/07 tenían un contenido en ARN muy bajo, cerca del límite de detección de algunas técnicas.

Por lo que respecta a la especificidad, los resultados generales son muy buenos, por mucho que hubo 2 falsos positivos, uno de ellos un error de transcripción con gran probabilidad. Esta misma situación se produjo también en el programa del año 2006<sup>3</sup>. Dada la trascendencia de esta prueba, está clara la necesidad de que los laboratorios participen en actividades que minimicen este riesgo, algo que, como muestran estos resultados, ocurre en mayor o menor frecuencia. También confirman el hecho ya conocido de que la prueba de carga viral no puede utilizarse con fines diagnósticos, especialmente ante valores de carga bajos.

A modo de resumen, los datos aquí analizados pueden considerarse aceptables y, hasta cierto punto, coherentes con lo esperado, a pesar de algunos porcentajes de desviaciones que pueden resultar a primera vista sorprendentes. De cualquier manera, ilustran acerca de la posibilidad de obtener resultados erróneos en cualquier laboratorio, de ahí la necesidad de introducir acciones preventivas y correctoras que reduzcan la posibilidad de errores, entre ellas la participación en ejercicios de intercomparación externos<sup>3,6,7</sup> como los representados por el Programa SEIMC.

## Control de calidad del VHC

### Características del material remitido

En el control de carga viral de VHC se remitieron 2 estándares de plasma congelado obtenidos de 2 pacientes distintos virémicos para el VHC, buscando unos contenidos aproximados en UI/ml preestablecidos. Una vez realizadas las alícuotas, se conservaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento del envío, que se hizo en nieve carbónica y entregas inferiores a las 24 h. Ambos estándares habían sido analizados por triplicado por 4 centros de referencia, cada uno de los cuales empleó un método comercial diferente, confirmándose los valores teóricos aproximados (tabla 4): PCR *real time* de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]) y de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott), PCR competitiva convencional de Roche Diagnostics (Cobas Amplicor® Monitor HCV [Cobas-Amplicor HCV]), amplificación de señal bDNA de Siemens Healthcare Diagnostics (Versant® HCV [bDNA Siemens]).

### Criterios de evaluación

Los dos estándares se analizaron de forma cuantitativa ( $\log_{10}$  UI/ml) de dos maneras diferentes: *a*) comparación de los resultados individuales con la media general de todos los participantes, considerando un intervalo de confianza (IC) aproximado del 95% (media  $\pm$  1,96 DE), como forma de observar la variabilidad de los laboratorios ante una misma muestra<sup>8,9</sup>, y *b*) comparación de los resultados de cada estándar respecto al mismo IC calculado para cada método, de manera que cada laboratorio pueda comparar sus propios resultados con los del resto de usuarios de la misma técnica. En ambos análisis se excluyeron los valores aberrantes según el criterio de Chauvenet<sup>1</sup>.

### Resultados del control del VHC

En este control se remitieron muestras a 77 laboratorios, de los que respondieron 73 (90,8%). La técnica utilizada mayoritariamente por los participantes fue la amplificación por PCR *real time*, especialmente el sistema comercial Taqman® de Roche (76,7%). Seis participantes (8,2%) utilizaron la PCR RT Abbott, y otros tantos el sistema comercial Cobas Amplicor. Por último, hubo 4 laboratorios que emplearon bDNA Siemens y un último que cuantificó los estándares con una técnica *in house* de desarrollo propio.

La tabla 5 resume los datos para el total de participantes. Aunque el contenido medio entre ambos estándares difería aproximadamente en 4,5 unidades logarítmicas, la variabilidad fue similar en términos de desviación respecto a la media (DE  $\approx$  0,4  $\log_{10}$  en ambos casos). Si acaso, como luego se verá al analizar los resultados por cada técnica comercial, podría haber una tendencia a una mayor variabilidad con el estándar de mayor contenido. Sin em-

TABLA 5. Control del virus de la hepatitis C (VHC): resultados comparados sobre el total de participantes, con independencia de la técnica utilizada\*

	Estándar	
	VHC-1/07	VHC-2/07
Media $\log_{10}$	2,69	7,00
Media $\log_{10} \pm 1,96$ DE	2,30-3,09	6,57-7,44
Dentro de límites	61/73	66/73

DE: desviación estándar.

\*Expresados en  $\log_{10}$  UI/ml.

bargo, si se analizan los participantes cuyos resultados estaban fuera del intervalo aceptable (media  $\log_{10}$  UI/ml  $\pm$  1,96 DE), éstos eran más frecuentes en el de menor contenido en ARN viral: 12 de 17 resultados fuera del límite correspondieron al estándar VHC-1/07. Cabe destacar que un centro obtuvo ambos valores fuera del intervalo aceptable, correspondiendo al participante que empleó una técnica de desarrollo propio. En general, una vez eliminados los resultados aberrantes, los resultados fueron buenos, lo que también podría indicar una mayor permisividad de los criterios de aceptación, a diferencia de lo que ocurría con el control del VIH-1, donde eran más estrictos.

La tabla 6 resume los resultados comparados por cada una de las técnicas utilizadas aunque, dado el bajo número de participantes para algunas técnicas (Cobas Amplicor, PCR RT Abbott, bDNA Siemens), estos resultados deben valorarse con prudencia. En general, los valores

TABLA 6. Control del virus de la hepatitis C (VHC): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado<sup>a</sup>

	Estándar	
	VHC-1/07	VHC-2/07
TaqMan® Roche		
Media $\log_{10}$	2,73	7,06
Límites aceptables <sup>b</sup>	2,47-2,96	6,82-7,31
Dentro de límites	51/56	55/56
Cobas-Amplicor® Roche		
Media $\log_{10}$	2,61	6,71
Límites aceptables <sup>b</sup>	2,14-3,27	5,97-7,45
Dentro de límites	5/6	4/6
PCR-RT Abbott		
Media $\log_{10}$	2,35	7,01
Límites aceptables <sup>b</sup>	2,10-2,61	6,75-7,26
Dentro de límites	5/6	5/6
bDNA Versant® Siemens		
Media $\log_{10}$	< 615	6,70
Límites aceptables <sup>b</sup>	< 615	6,67-6,73
Dentro de límites	4/4	4/4

<sup>a</sup>Expresado en  $\log_{10}$  UI/ml.

<sup>b</sup>Media  $\pm$  1,96 DE.

TABLA 4. Control del VHC: resultados de los laboratorios de referencia para cada estándar y técnica

Estándar	PCR-RT Abbott (LR-A)		b-DNA Bayer (LR-B)		PCR-RT Taqman Roche (LR-C)		Cobas-Amplicor Roche (LR-C)	
	UI/ml	Log <sub>10</sub>	UI/ml	Log <sub>10</sub>	UI/ml	Log <sub>10</sub>	UI/ml	Log <sub>10</sub>
VHC-1/06	648	2,81	< 615	—	743	2,87	404	2,61
VHC-2/06	17.439.098	7,24	5.103.717	6,71	9.643.333	6,98	2.056.667	6,31

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

obtenidos quedaban comprendidos dentro del margen aceptable (IC del 95% de la media de los participantes por cada técnica), aunque se obtuvieron también valores anómalos con todas ellas, excepto con bDNA Siemens (sólo 4 participantes, 8 resultados). El análisis por técnica más fiable corresponde al método PCR RT Roche, ya que fue el utilizado por 56 participantes. Sólo 6 resultados del total de 112 (5,4%) quedaron fuera del intervalo de valores aceptables, de los cuales sólo uno se produjo con el estándar de contenido en ARN más alto (VHC-2/07).

Como era de esperar, con ambos estándares se aprecia una cierta tendencia a la dispersión, y los intervalos de aceptación correspondientes oscilaban en torno a  $0,5 \log_{10}$  UI/ml para los métodos PCR RT Roche, PCR RT Abbott y Cobas Amplicor. El método bADN, basado en amplificación de la señal, parece el más robusto, de manera que el IC del 95% para el estándar VHC-2/07 fue tan sólo de  $0,06 \log_{10}$  UI/ml, aunque hay que tener en cuenta el pequeño número de participantes que utilizaron esta técnica. Por el contrario, el bADN mostró una sensibilidad analítica inferior a los métodos de amplificación, de modo que ninguno de los participantes detectó contenido de ARN en la muestra VHC-1/07 y refirieron un resultado "indetectable", esto es, por debajo del límite de detección del método, fijado en 615 UI/ml.

Aunque no es posible hacer un análisis estadístico de correlación de valores, las medias obtenidas con los diferentes métodos son bastante homogéneas y, en conjunto, se podría decir que los métodos son razonablemente intercomparables.

### Comentarios y conclusiones al control del VHC

A diferencia de lo que se observó con el control del VIH-1, en el del VHC no se observó una mayor variabilidad con los estándares de menor contenido de carga viral, como podría esperarse desde el punto de vista teórico, si bien es cierto que la mayor parte de resultados fuera del margen de aceptación se produjo con el estándar de contenido bajo.

Desde el punto de vista de valoración general de los resultados, los aquí presentados deben ser considerados como aceptables y coherentes con lo esperado. La mayor parte de los participantes incluyen sus resultados individuales dentro del intervalo de aceptación, que fue un IC aproximado del 95%. Se puede argumentar que, tal vez, los criterios establecidos por el Programa han sido demasiado permisivos, si bien hay que señalar que el IC ha sido ligeramente superior a 0,5 unidades logarítmicas para ambos estándares, una cifra que se puede considerar aceptable desde el punto de vista del seguimiento clínico<sup>10,11</sup>, más teniendo en cuenta de que se trata de variabilidad interlaboratorio. Por lo que se refiere al análisis por técnicas comerciales, no es posible obtener datos concluyentes, debido a la utilización mayoritaria de un determinado método. A pesar de ello, llama poderosamente la atención la robustez del método bDNA Siemens con el estándar VHC-2/07, de modo que el IC del 95% fue tan sólo de  $0,06 \log_{10}$  UI/ml. Por el contrario, esta técnica muestra una menor sensibilidad analítica y ninguno de los participantes detectó ARN viral en la muestra de bajo contenido, inferior al límite de detección establecido.

Como ocurría con el control de VIH-1, en éste también se detectan errores, escasos pero significativos, que resaltan la importancia de que los laboratorios mantengan

un alto grado de exigencia durante la realización habitual de estas pruebas. Algunos de estos errores podrían atribuirse al proceso de transcripción de los datos, lo que muestra una vez más la importancia de todas las fases del proceso analítico sobre la calidad de los resultados. Los ejercicios de intercomparación externos pueden ser una herramienta útil con este objetivo, como pone de manifiesto los resultados aquí expuestos.

### Agradecimientos

El Programa de Control de Calidad SEIMC agradece la colaboración en el proceso de caracterización del material de control a las siguientes personas: Dr. Juan C. Galán, del Servicio de Microbiología, Hospital Ramón y Cajal, Madrid; Dr. David Navarro, del Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario, Valencia; Dra. Josefa Galindo y Dr. Federico Alcácer, de la Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Clínico Universitario, Valencia; Dra. Cristina Arbona, del Servicio de Hematología, Hospital Clínico Universitario, Valencia; Dr. Rogelio Martín Álvarez, Dra. Aurora Casanovas y Dr. Jordi Niubò Bosch, del Servicio de Microbiología, Hospital de Bellvitge, Hospitalet, Barcelona; Dr. Rafael Delgado, Dr. Antonio Fuertes y Dr. Fernando Chaves, del Servicio de Microbiología, Hospital 12 de Octubre, Madrid; Dra. Nieves Fernández, Servicio de Microbiología, Hospital Materno-Infantil Carlos-Haya, Málaga.

### Declaración de conflicto de intereses

Los autores han declarado no tener ningún conflicto de intereses.

### Bibliografía

1. Bevington PR, Robinson DK. Data reduction and error analysis for the physical sciences. 3rd ed. Boston: McGraw-Hill; 2003.
2. Niesters HGM. QCMD 2005 human immunodeficiency virus type 1 (HIV-RNA05) proficiency programme. Final report. Glasgow: Quality Control for Molecular Diagnostics, 2005. Disponible en: [www.qcmd.org](http://www.qcmd.org)
3. Orta N, Guna MR, Latorre JC, Pérez JL, Gimeno C. Análisis de resultados del Programa de Control de Calidad Externo de Carga Viral del VIH-1 y del VHC, año 2006. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;25 Supl 3:8-13.
4. Programa Nacional de Control de Calidad de Carga Viral del VIH. Versión Anual. 7.ª ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. Secretaría del Plan Nacional sobre el SIDA; 2005.
5. Best SJ, Gust AP, Johnson EJM, McGavin CH, Dax EM. Quality of human virus viral load testing in Australia. *J Clin Microbiol*. 2000;38:4015-20.
6. Brambilla DJ, Granger S, Jennings C, Bremer JW. Multisite comparison of reproducibility and recovery from the standard and ultrasensitive Roche Amplicor HIV Monitor assays. *J Clin Microbiol*. 2001;29:1221-3.
7. Muyldermans G, Debaisieux L, Franssen K, Marissens D, Miller K, Vaira D, et al. Blinded, multicenter quality control study for the quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma by the Belgian AIDS reference laboratories. *Clin Microbiol Infect*. 2000;6:213-7.
8. Niesters HGM. QCMD 2005 hepatitis C virus (HCVRNA05) proficiency programme. Final report. Glasgow: Quality Control for Molecular Diagnostics, 2005. Disponible en: [www.qcmd.org](http://www.qcmd.org)
9. Gentili G, Cristiano K, Pisani G, Bisso GM, Miceli M, Wirz M, et al. Collaborative study for the calibration of a new Italian HCV RNA reference preparation against the international standard. *Ann Ist Super Sanità*. 2003;39:183-7.
10. Fanning L, Kenny-Walsh E, Levis J, Choudhury KR, Cannon B, Sheehan M, et al. Natural fluctuations of hepatitis C virus load in a homogeneous patient population: a prospective study. *Hepatology*. 2000;35:225-9.
11. Martínez-Bauer E, Crespo J, Romero-Gómez M, Moreno-Otero R, Sola R, Tesei N, et al. Development and validation of two models for early prediction of response to therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2006; 43:72-80.