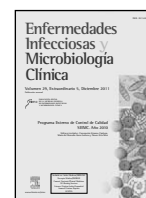




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Análisis de resultados del Programa de Control de Calidad Externo SEIMC de carga viral del VIH-1, del VHC y del VHB. Año 2010

Nieves Orta Mira^{a,b,*}, María del Remedío Guna Serrano^{a,c}, José-Carlos Latorre Martínez^a, María Rosario Ovies^a, Marta Poveda^a, Enrique Ruiz de Gopegui^{a,d} y Concepción Gimeno Cardona^{a,c,e}

^aPrograma de Control de Calidad Externo SEIMC

^bUnidad de Microbiología, Hospital Francisc de Borja, Gandía, Valencia, España

^cServicio de Microbiología, Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, Valencia, España

^dHospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, España

^eServicio de Microbiología, Hospital General Universitario y Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, España

RESUMEN

Palabras clave:

VHB
VHC
VIH-1
Carga viral
Control de calidad externo
Intercomparación

Las determinaciones de la carga viral de los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), de la hepatitis C (VHC) y de la hepatitis B (VHB) son marcadores microbiológicos fundamentales para el seguimiento y control de los pacientes infectados por estos virus. Los laboratorios de microbiología deben disponer de herramientas que garanticen la fiabilidad de sus resultados; entre ellas se encuentran los programas de intercomparación externos. En el presente número se muestra el análisis de resultados del Programa de Control de Calidad SEIMC de carga viral de los 3 virus y del genotipado del VHC, realizados durante el año 2010.

En el control de VIH-1 se remitieron 5 estándares, de los que 1 (plasma humano seronegativo) no contenía el virus, y los otros 4 consistían en plasma de 3 pacientes víremicos distintos en un intervalo de concentraciones entre 3-5 log₁₀ copias/ml; 2 de ellos eran idénticos, con el fin de analizar la repetibilidad. Una parte significativa de los laboratorios obtuvo resultados fuera de los límites aceptables (media ± 0,2 log₁₀ copias/ml), dependiendo del estándar y del método empleado, en promedio el 22,6%. La repetibilidad fue muy buena y más del 95% de los laboratorios obtuvo resultados aceptables ($\Delta < 0,5 \log_{10}$ copias/ml). En los controles de VHC y VHB se remitieron 2 estándares con diferente contenido del virus. La mayor parte de los participantes, 86,1% en el caso del VHC y 87,1% en el del VHB, obtuvo ambos resultados dentro de los límites de la media ± 1,96 desviación estándar log₁₀ UI/ml. Se detectaron errores postanalíticos de transcripción de los resultados en estos controles.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la utilidad de los controles externos para asegurar la calidad de los resultados analíticos, incluyendo la fase postanalítica. Debido a la variabilidad interlaboratorio, es aconsejable utilizar un mismo método y el mismo laboratorio en el seguimiento de los pacientes.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Analysis of the results of the 2010 External Quality Control Program of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology for HIV-1, HCV, and HBV viral loads

ABSTRACT

Keywords:

HCB
HCV
HIV-1
Viral load
External quality control
Proficiency

Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and hepatitis B (HBV) and C virus (HCV) viral load determinations are among the most important markers for the follow-up of patients infected with these viruses. External quality control tools are crucial to ensure the accuracy of the results obtained by microbiology laboratories. This article summarized the results obtained in the 2010 External Quality Control Program of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology for HIV-1, HCV, and HBV viral loads and HCV genotyping.

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 the range of

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: niormi@gmail.com (N. Orta Mira).

3-5 log₁₀ copias/mL; two of these standards were identical, with the aim of determining repeatability. A significant proportion of the laboratories (22.6% on average) obtained values out of the accepted range (mean ± 0.2 log₁₀ copias/mL), depending on the standard and on the method used for quantification. Repeatability was very good, with up to 95% of laboratories reporting results within the limits ($\Delta < 0.5 \log_{10}$ copias/mL). The HBV and HCV program consisted of two standards with different viral load contents. Most of the participants, 86.1% in the case of HCV and 87.1% in HBV, obtained all the results within the accepted range (mean ± 1.96 SD log₁₀ UI/mL). Post-analytical errors due to mistranscription of the results were detected in these controls.

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

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La determinación cuantitativa de genoma (carga viral) de los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y de las hepatitis B (VHB) y C (VHC) constituye una de las funciones primordiales del laboratorio de microbiología molecular. Para ello, los laboratorios suelen utilizar sistemas comerciales, pero su eficacia diagnóstica es difícil de evaluar con la sola experiencia de cada centro. Desde hace 5 años (2006-2010) y con carácter anual, el Programa de Control de Calidad de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) dispone del control de calidad externo de carga viral del VIH-1 y del VHC, como un servicio directo a los profesionales que desarrollan su actividad en el laboratorio e, indirectamente, a los clínicos que atienden a los pacientes infectados por esos virus. Además, en 2009 se incorporó al control de carga viral del VHC la realización del genotipado de éste con buena aceptación, mientras que en 2010 ha comenzado por primera vez el control de carga viral del VHB. 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 2010 se remitió a los participantes 5 estándares de plasma congelado, denominados VIH-1/10 a VIH-5/10, 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 víremicos distintos, buscando contenidos teóricos dentro de un intervalo de 3-5 unidades logarítmicas. Los estándares VIH-1/10 y VIH-4/10 eran idénticos y estaban destinados, además, a analizar la repetibilidad de los resultados intralaboratorio (repetitividad de resultados en un mismo mo-

mento y bajo las mismas condiciones). El estándar VIH-2/10 se preparó con plasma de un paciente seronegativo. Las muestras se analizaron en 3 laboratorios de referencia diferentes por los métodos de PCR *real time* de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]), de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott) y de Siemens Diagnostics (VER-SANT® kPCR), tal como se muestra en la tabla 1, quienes confirmaron los valores teóricos. La participación fue anónima y voluntaria.

Una vez preparados los estándares, se mantuvieron congelados a -80 °C hasta su envío a los participantes, que se realizó con nieve carbónica y asegurando entregas en menos de 24 h.

Criterios de evaluación

Para demostrar la especificidad de las determinaciones se contaba con el estándar VIH-2/10 como control negativo (plasma seronegativo). En este caso se consideraron válidos los resultados que se informaron por debajo del límite de detección de la técnica utilizada, y cualquier cuantificación obtenida, un falso positivo. Para los estándares VIH-1/10 y VIH-4/10 (plasmas idénticos), se tomó como medida central la media de los valores obtenidos en ambos por todos los participantes que utilizaban un mismo método. En todos los casos se eliminaron los valores extremos y aberrantes para el cálculo de la media¹. El criterio de aceptación se fijó en la media de los participantes para cada método ± 0,2 log₁₀, ya que ésta ha sido la variabilidad técnica obtenida en estudios previos²⁻⁶. Estos estándares (VIH-1/10 y VIH-4/10) se utilizaron también para evaluar la repetibilidad de los resultados obtenidos por cada participante. En este caso se calculó el diferencial (Δ) entre ambos valores referidos por cada centro, expresados en unidades logarítmicas. Se consideró aceptable cuando $\Delta < 0,5 \log_{10}$ copias/ml, valor que tiene en cuenta tanto la variabilidad técnica³⁻⁶ 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.

Tabla 1

Control virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)-1: resultados de los laboratorios de referencia para cada estándar y técnica

Estándar	PCR-RT Abbott (LR-A)		kPCR Siemens (LR-B)		PCR-RT TaqMan Roche (LR-C)	
	Copias/ml	Log ₁₀	Copias/ml	Log ₁₀	Copias/ml	Log ₁₀
VIH-1/10	7.741	3,89	6.836	3,83	28.400	4,45
VIH-2/10	< 40	-	< 37	-	< 20	-
VIH-3/10	2.475	3,39	925	2,97	10.800	4,03
VIH-4/10	7.794	3,89	4.937	3,69	25.400	4,4
VIH-5/10	129.446	5,11	70.224	4,85	125.000	5,1

LR: laboratorio de referencia (A, B, C); PCR: reacción en cadena de la polimerasa; PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *real time*.

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

	Estándar				
	VIH-1/10	VIH-2/10	VIH-3/10	VIH-4/10	VIH-5/10
TaqMan® Roche					
Media log ₁₀	4,34	Indetectable	3,94	4,34	5,16
Límites aceptables	4,14-4,54	Indetectable	3,74-4,14	4,14-4,54	4,96-5,36
Dentro de límites	52/72	73/73	52/73	49/73	66/73
Versant® kPCR Siemens					
Media log ₁₀	3,87	Indetectable	3,25	3,87	4,94
Límites aceptables	3,67-4,07	Indetectable	3,05-3,45	3,67-4,07	4,74-5,14
Dentro de límites	5/7	6/6	5/6	6/6	4/6
Nuclisens®-RT bioMérieux					
Media log ₁₀	4,17	Indetectable	3,45	4,17	5,27
Límites aceptables	3,97-4,37	Indetectable	3,25-3,65	3,97-4,37	5,07-5,47
Dentro de límites	3/4	4/4	1/4	1/4	0/4
PCR-RT Abbott					
Media log ₁₀	3,89	Indetectable	3,39	3,89	5,2
Límites aceptables	3,69-4,09	Indetectable	3,19-3,59	3,69-4,09	5,00-5,40
Dentro de límites	2/3	3/3	1/3	1/3	2/3

^aSe calculó sobre cada método, excluyendo los valores aberrantes¹.

^bMedia \pm 0,2 log₁₀ copias/ml.

Resultados del control VIH-1

Se envió el material de control a 98 participantes, 5 más que el año anterior, de los que 91 remitieron respuesta (92,9%). El método más empleado fue la PCR-RT Taqman® de Roche (80,2%), seguido por la kPCR® de Siemens (6,6%), el NASBA-RT Nuclisens® de bioMérieux (4,4%), la PCR-RT de Abbott (3,3%), mientras que el resto de participantes (5, el 5,5%) informó cada uno una técnica distinta. Respecto a ediciones anteriores del control, se confirma el descenso en el uso de los métodos Cobas Amplicor® de Roche y bDNA de Siemens (ambas informadas en 2010 por sólo 1 y 2 centros, respectivamente) en favor de las técnicas de PCR *real time*.

En la tabla 2 se resumen los resultados para cada método comercial. Desde el punto de vista de la especificidad, los resultados fueron buenos, ya que en esta ocasión solamente hubo un único participante que detectó genoma de VIH-1 en el estándar negativo (VIH-2/10), probablemente debido a un error de transcripción de los datos en el formulario de respuesta. Esta circunstancia contrasta con los datos de la edición del control del año anterior, en que hubo 4 participantes que detectaron genoma del VIH-1 en dicho estándar. En cuanto a la variabilidad de los resultados, la mayor parte de resultados fuera del intervalo de aceptación se obtuvo con los estándares VIH-3/10, VIH-4/10 y VIH-1/10. Asimismo, de la tabla 2 se puede deducir la existencia de 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 de otros años³⁻⁶.

En cuanto a los métodos de PCR-RT, el comercializado por Roche (Taqman®) obtiene un 19,5% de resultados fuera del límite de aceptación, el de Siemens un 16,7%, mientras que el de Abbott fue del 40,0%, si bien hay que tomar este último dato con mucha cautela pues el número de participantes que utilizaron el método de Abbott fue tan sólo de 3. Por otro lado, todos los centros acertaron, al menos, un

estándar, si bien hubo 4 centros que sólo acertaron con el estándar VIH-2/10 (control negativo). Por último, solamente en 1 ocasión se informaron resultados falsamente negativos.

En cuanto a los resultados del estudio de repetibilidad, la gran mayoría de los participantes (n = 87, 95,6%) obtuvieron resultados reproducibles ($\Delta < 0,5 \log_{10}$). En el caso de los 4 centros que no superaron la prueba, en uno se debe a que el participante no pudo realizar la carga viral del primero de los estándares (no comenta la causa) y otro de los laboratorios a posible error de transcripción de los datos en el formulario *web* (fase postanalítica), aunque se carece de información suficiente a este respecto para poder confirmarlo. Cabe destacar que el porcentaje de centros que supera este estudio de repetibilidad es similar al del año 2009 (que fue del 97,6%) y superior al de ediciones anteriores del control.

Comentarios y conclusiones al control VIH-1

En términos generales, los resultados aquí presentados dan una idea de la variabilidad que se puede obtener en nuestros laboratorios en la práctica diaria y con una prueba de indudable trascendencia como es la carga viral del VIH-1. Incluso eliminando los resultados extremos y aberrantes, cuando se observa 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.

Es importante señalar que, en torno al 22,6% del total de resultados aportados por los participantes, se situaron fuera del intervalo aceptable de $\pm 0,2 \log_{10}$ copias/ml alrededor de la media para cada técnica, aunque la mayor experiencia es con la técnica PCR-RT Roche. El resto de métodos son empleados por pocos centros, por lo que las conclusiones obtenidas a partir del análisis de sus datos deben ser tomadas con mucha cautela.

En el presente control, como ya sucedía en otros anteriores, se introdujeron 2 muestras idénticas con el fin de evaluar la repetibili-

Tabla 3

Control virus de la hepatitis C (VHC): resultados de los laboratorios de referencia para cada estándar y técnica

Estándar	PCR-RT Abbott (LR-A)		b-DNA Siemens (LR-B)		PCR-RT Taqman Roche (LR-C)	
	UI/ml	Log ₁₀	UI/ml	Log ₁₀	UI/ml	Log ₁₀
VHC-1/10	1.263.010	6,10	749.686	5,87	1.410.000	6,15
VHC-2/10	2.118	3,33	1.225	3,09	3.020	3,48

b-DNA: *branched* DNA; LR: laboratorio de referencia (A, B, C); PCR: reacción en cadena de la polimerasa; PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *real time*.

dad de los resultados de un determinado laboratorio. Los datos obtenidos son muy buenos, con un margen de error aceptable desde el punto de vista del seguimiento clínico de los pacientes infectados con el VIH-1.

Cuando se analiza la especificidad, los resultados generales son buenos, ya que sólo hubo un falso positivo, por un posible error de transcripción. Sin embargo, dada la trascendencia de esta prueba, está claro que los laboratorios están obligados a introducir actividades que minimicen este riesgo, algo que, como muestran estos resultados, ocurre en mayor o menor frecuencia. Lo mismo sucede en el caso del resultado falsamente negativo, que aunque se considere como un dato espurio pone de manifiesto la necesidad de mantener una estricta vigilancia técnica y facultativa.

A modo de resumen, los datos aquí analizados pueden considerarse aceptables y coherentes con lo esperado, a pesar de algunas desviaciones que pudieran resultar, a primera vista, sorprendentes. De cualquier manera, ilustran sobre la posibilidad de obtener resultados erróneos en cualquier laboratorio, de ahí la necesidad de introducir acciones de control interno y externo que reduzcan la posibilidad de aparición de éstos, entre ellas la participación en ejercicios de intercomparación externos³⁻⁹ 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 (VHC-1/10 y VHC-2/10) obtenidos de 2 pacientes distintos víremicos para el VHC, buscando unos contenidos aproximados en UI/ml preestablecidos. Una vez realizadas las alícuotas, se conservaron a una temperatura de -80 °C hasta el momento de su envío, que se hizo en nieve carbónica y con entregas inferiores a las 24 h. Ambos estándares habían sido analizados por 3 centros de referencia, cada uno de los cuales empleó un método comercial diferente, confirmándose los valores teóricos aproximados (tabla 3): PCR *real time* de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]) y de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott) y amplificación de señal bDNA de Siemens Healthcare Diagnostics (Versant® HCV [bDNA Siemens]). Como ya sucedía en el control de 2009, a todos los participantes que dispusieran de la técnica se les solicitó la realización del genotipado del VHC en el estándar VHC-1/10, el cual había sido informado por el laboratorio de referencia como VHC genotipo 1a mediante Abbott PCR *real time* HCV.

Criterios de evaluación

Los 2 estándares se analizaron de forma cuantitativa (log₁₀ UI/ml) comparando los resultados individuales obtenidos por cada participante respecto al intervalo de confianza (IC) del 95% (media ± 1,96 desviación estándar [DE]) de todos los que utilizaron su mismo método comercial^{10,11}. Al igual que con el control del VIH-1, para el cálculo de la media y de la DE se excluyeron los valores extremos y aberrantes¹.

Resultados del control VHC

En este control se remitieron muestras a 96 laboratorios, de los que 87 respondieron (90,6%). De ellos, 60 realizaron también el genotipado del virus, lo que supone el 62,5% del total de participantes inscritos. La técnica utilizada mayoritariamente por los participantes fue la amplificación por PCR *real time*, especialmente con el sistema comercial Taqman® de Roche (73 centros, el 83,9%). Siete participantes (8,1%) utilizaron la PCR-RT de Abbott, 5 el bDNA de Siemens (5,7%), 1 (1,1%) empleó la PCR-RT de Qiagen Diagnostics y, por último, el centro restante realizó una PCR *in house* de desarrollo propio (1,1%). En esta ocasión, ningún centro ha utilizado el sistema Cobas Amplificor® de Roche.

La tabla 4 resume los datos para el total de participantes. La variabilidad fue similar en términos de desviación respecto a la media para ambos estándares. Del total de resultados informados, se encontraba dentro del intervalo de aceptación el 86,1%. Cabe destacar que 4 centros obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable, uno de ellos posiblemente se deba a un error de transcripción de los datos (fase postanalítica) o de identificación de los viales (fase preanalítica). En general, una vez eliminados los resultados aberrantes, éstos fueron buenos.

La tabla 5 resume los resultados comparados por cada una de las técnicas con la media de los que usan su misma técnica aunque, dado el bajo número de participantes para algunas de ellas (PCR-RT Abbott, bDNA Siemens), estos resultados deben tomarse con prudencia. En general, los valores obtenidos quedaban comprendidos dentro del margen aceptable (IC del 95% de la media de los participantes por cada técnica), y la práctica totalidad de los valores anómalos se obtuvieron con la técnica de PCR-RT Taqman® Roche que, por otro lado, también fue la más ampliamente utilizada (73 participantes). Es por esto por lo que las conclusiones que de ella se derivan son las más firmes. Mediante esta técnica, un total de 17 resultados de 146 (11,6%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 8 se obtuvieron con el estándar VHC-1/10 y 9 con el VHC-2/10, detectándose carga viral en todas las 146 determinaciones realizadas con esta técnica.

En cuanto al resto de métodos, resaltar que el sistema PCR *real time* de Abbott presenta todos sus valores dentro del intervalo de aceptación. En cuanto al método bDNA de Siemens, 8 de los 10 valo-

Tabla 4

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

	Estándar	
	VHC-1/10	VHC-2/10
Media log ₁₀	6,10	3,44
Media log ₁₀ ± 1,96 DE	5,72-6,49	3,13-3,75
Dentro de límites	79/87	75/87

DE: desviación estándar.

*Expresados en log₁₀ UI/ml.

Tabla 5

Control virus hepatitis C (VHC): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado^a

	Estándar	
	VHC-1/10	VHC-2/10
TaqMan® Roche		
Media log ₁₀	6,12	3,46
Límites aceptables ^b	5,74-6,49	3,18-3,75
Dentro de límites	64/72	63/72
PCR-RT Abbott		
Media log ₁₀	6,15	3,39
Límites aceptables ^b	5,88-6,42	3,16-3,62
Dentro de límites	7/7	7/7
bdNA Versant® Siemens		
Media log ₁₀	5,83	3,08
Límites aceptables ^b	5,71-5,95	3,07-3,09
Dentro de límites	5/5	3/5

^aExpresado en log₁₀ UI/ml.

^bMedia ± 1,96 DE.

res informados (80,0%) se encontraban dentro de dicho intervalo, mientras que en los 2 casos restantes no detectó contenido de ARN en la muestra VHC-2/10, aportándose 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, podríamos decir que los métodos son razonablemente intercomparables.

De los 87 participantes que contestaron al control, realizaron el genotipado del VHC 60 (67,0%). El 83,3% de éstos informó un genotipo 1a, coincidente con el valor aportado por el laboratorio de referencia, el 13,3% informó genotipo 1, el 1,7% como no subtipable (un centro) y un laboratorio no pudo realizar el genotipo por poco volumen de muestra y baja carga viral. El método que se utilizó de forma mayoritaria por los centros participantes fue la hibridación inversa, seguido de la PCR-RT y de la secuenciación. La marca comercial más empleada fue Siemens, que dispone de reactivos tanto para la realización de una hibridación inversa como para una secuenciación. Cabe destacar que todos los centros que utilizaron los reactivos de PCR-RT de Abbott y métodos de desarrollo propio informaron correctamente el genotipo (1a) y que todos los que realizaron la hibridación

inversa de Roche únicamente informaron genotipo 1, lo que era de esperar, ya que esta técnica no diferencia entre 1a y 1b (tabla 6).

Comentarios y conclusiones al control VHC

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 (IC del 95%). Se puede argumentar que, tal vez, los criterios establecidos por el Programa han sido demasiado permisivos, si bien hay que señalar que la DE ha sido < 0,5 unidades logarítmicas para ambos estándares, cifra que se puede considerar aceptable desde el punto de vista del seguimiento clínico^{12,13}, y más teniendo en cuenta 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.

Control de calidad del VHB

Características del material remitido

En el control de carga viral de VHB se remitieron 2 estándares de plasma congelado (VHB-1/10 y VHB-2/10) obtenidos de 2 pacientes distintos virémicos para el VHB, buscando unos contenidos aproximados en UI/ml preestablecidos. Una vez realizadas las alícuotas se conservaron a una temperatura de -80 °C hasta el momento de su envío, que se hizo en nieve carbónica y con entregas inferiores a las 24 h. Ambos estándares habían sido analizados por 3 centros de referencia, cada uno de los cuales empleó un método comercial diferente, confirmándose los valores teóricos aproximados (tabla 7): PCR *real time* de Roche Diagnostics [Taqman® (PCR-RT Roche)] y de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott) y amplificación de señal bdNA de Siemens Healthcare Diagnostics [Versant® HBV (bdNA Siemens)].

Criterios de evaluación

Los 2 estándares se analizaron de forma cuantitativa (log₁₀ UI/ml) comparando los resultados individuales obtenidos por cada participante respecto al IC del 95% (media ± 1,96 DE) de todos los que utilizaron su mismo método comercial^{10,11}. Al igual que con el control del VIH-1 y del VHC, para el cálculo de la media y de la desviación estándar se excluyeron los valores extremos y aberrantes¹.

Resultados del control VHB

En este control se remitieron muestras a 76 laboratorios, de los que 70 respondieron (92,1%). Como sucede con otros tipos de contro-

Tabla 6

Análisis de los resultados genotipado virus de la hepatitis C (VHC) (estándar VHC-1/10)

Método	Marca	Genotipo 1 (%) ^a	Genotipo 1a (%) ^a	Genotipo no subtipable (%) ^a	Genotipo no realizado (%) ^a	Total (%) ^b
Hibridación inversa	INNOLIPA HCV (Siemens)	1 (2,6)	36 (94,7)	1 (2,6)	-	38 (63,3)
	Linear array HCV (Roche)	7 (87,5)	-	-	1 (12,5)	8 (13,3)
PCR-RT	Abbott RT HCV	-	6 (100,0)	-	-	6 (10,0)
Secuenciación	Trugene (Siemens)	-	2 (100,0)	-	-	2 (3,3)
	Desarrollo propio	-	4 (100,0)	-	-	4 (6,7)
RFLP	Desarrollo propio	-	2 (100,0)	-	-	2 (3,3)
Total	-	8 (13,3)	50 (83,3)	1 (1,7)	1 (1,7)	60 (100,0)

RFLP: polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción.

^aPorcentaje respecto a los centros que realizan su mismo método y marca.

^bPorcentaje respecto al total de centros participantes.

Tabla 7

Control virus de la hepatitis B (VHB): resultados de los laboratorios de referencia para cada estándar y técnica

Estándar	PCR-RT Abbott (LR-A)		b-DNA Siemens (LR-B)		PCR-RT Taqman Roche (LR-C)	
	UI/ml	Log ₁₀	UI/ml	Log ₁₀	UI/ml	Log ₁₀
VHB-1/10	169.800	5,23	200.100	5,30	88.500	4,95
VHB-2/10	490	2,69	4.120	3,61	842	2,93

b-DNA: *branched* DNA; LR: laboratorio de referencia (A, B, C); PCR: reacción en cadena de la polimerasa; PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *real time*.**Tabla 8**

Control virus de la hepatitis B (VHB): resultados comparados sobre el total de participantes, con independencia de la técnica utilizada*

	Estándar	
	VHB-1/10	VHB-2/10
Media log ₁₀	5,09	3,09
Media log ₁₀ ± 1,96 DE	4,64-5,55	2,42-3,76
Dentro de límites	65/70	64/70

DE: desviación estándar.

*Expresados en Log₁₀ UI/ml.

les de carga viral (VIH y VHC), el método informado por la gran mayoría de los participantes fue la PCR-RT por el sistema Cobas Taqman® de Roche (57 centros, el 81,4%); seguida a distancia por la PCR-RT de Abbott (5 participantes, 7,1%), el sistema Versant® bDNA de Siemens (3 centros, 4,3%) y la PCR-RT de Affigene de bioMérieux (otros 3 centros, 4,3%). Un solo participante informó una PCR de desarrollo propio (*in house*) y otro laboratorio una de Qiagen Diagnostics.

La tabla 8 resume los datos para el total de participantes. La variabilidad fue similar en términos de desviación respecto a la media para ambos estándares. Del total de resultados informados se encontraba dentro del intervalo de aceptación el 87,1%. Cabe destacar que 2 centros obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable. Una de las 2 ocasiones en las que ambos estándares se encuentran fuera del intervalo de aceptación puede deberse también a otro posible error de transcripción de los datos, ya que parece que los valores de ambos estándares están intercambiados. En general, una vez eliminados los resultados aberrantes, éstos fueron buenos.

La tabla 9 resume los resultados comparados por cada una de las técnicas con la media de los que usan su misma técnica aunque, dado el bajo número de participantes para algunas (PCR-RT Abbott, PCR-RT bioMérieux, bDNA Siemens), estos resultados deben tomarse con prudencia. En general, los valores obtenidos quedaban comprendidos dentro del margen aceptable (IC del 95% de la media de los participantes por cada técnica) y la práctica totalidad de los valores anómalos se obtuvieron con la técnica de PCR-RT Taqman® Roche que, por otro lado, también fue la más ampliamente utilizada (57 participantes). Es por esto por lo que las conclusiones que de ella se derivan son las más consistentes. Mediante esta técnica, un total de 9 resultados de 114 (7,9%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 4 se obtuvieron con el estándar VHB-1/10 y 5 con el VHB-2/10, detectándose carga viral en 113 de las 114 determinaciones realizadas con esta técnica.

En cuanto al resto de métodos, cabe resaltar que los sistemas PCR *real-time* de Abbott, PCR *real-time* de Affigene (bioMérieux) y el bDNA de Siemens presentan todos sus valores dentro del intervalo de aceptación, si bien estos 3 métodos fueron empleados por pocos participantes, por lo que los datos de que disponemos deben valorarse prudentemente.

Como ya sucedía con la carga viral del VHC, aunque no es posible hacer un análisis estadístico de correlación de valores, las medias

Tabla 9Control virus de la hepatitis B (VHB): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado^a

	Estándar	
	VHB-1/10	VHB-2/10
TaqMan® Roche		
Media log ₁₀	5,05	3,05
Límites aceptables ^b	4,63-5,47	2,43-3,67
Dentro de límites	53/57	52/57
PCR-RT Abbott		
Media log ₁₀	5,40	3,03
Límites aceptables ^b	5,12-5,68	2,23-3,83
Dentro de límites	5/5	5/5
PCR-RT Affigene® bioMérieux		
Media log ₁₀	5,34	3,36
Límites aceptables ^b	5,02-5,65	2,97-3,74
Dentro de límites	3/3	3/3
bDNA Versant® Siemens		
Media log ₁₀	5,17	3,43
Límites aceptables ^b	4,94-5,39	3,12-3,75
Dentro de límites	3/3	3/3

^aExpresado en log₁₀ UI/ml.^bMedia ± 1,96 DE.

obtenidas con los diferentes métodos son bastante homogéneas y, en conjunto, podríamos decir que los métodos son razonablemente intercomparables.

Comentarios y conclusiones al control VHB

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 (IC del 95%). No obstante, es importante que los laboratorios, de forma individual, mantengan un alto grado de vigilancia sobre la calidad de sus resultados en el día a día y, en caso necesario, introduzcan las medidas correctoras oportunas. 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.

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. Rogelio Martín Álvarez, Dra. Aurora Casanovas y Dr. Jordi Niubó Bosch, del Servicio de Microbiología, Hospital de Bellvitge, Barcelona; Dr. José Luis Pérez y Dra. Ana Mena, del Servicio de Microbiología, Hospital Son Espases de Palma de Mallorca; la Dra. M. Dolores

Ocete, del Servicio de Microbiología, Consorcio-Hospital General Universitario de Valencia, y Dr. Roberto Roig, Dr. José Villalba y Dr. Manuel Álvarez, del Centro de Transfusiones de la Comunidad Valenciana.

Conflicto de intereses

Los autores declaran 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 (HIVRNA05) proficiency programme. Final report. Glasgow: Quality Control for Molecular Diagnostics, 2005. Disponible en: 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. Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Pérez JL, Gimeno Cardona C. Análisis de resultados del Programa Externo de Control de Calidad SEIMC de carga viral del VIH-1 y del VHC. Año 2007. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26 Supl 3:8-13.
5. Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Pérez JL, Gimeno Cardona C. Análisis de resultados del Programa Externo de Control de Calidad SEIMC de carga viral del VIH-1 y del VHC. Año 2008. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;28 Supl 1:7-11.
6. Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Ovies MR, Poveda M, Ruiz de Gopegui E, et al. Análisis de resultados del Programa de Control de Calidad Externo SEIMC de carga viral del VIH-1 y del VHC. Año 2009. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29 Supl 3:8-13.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. Niesters HGM. QCMD 2005 hepatitis C virus (HCVRNA05) proficiency programme. Final report. Glasgow: Quality Control for Molecular Diagnostics, 2005. Disponible en: www.qcmd.org
11. 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.
12. 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.
13. Martínez-Bauer E, Crespo J, Romero-Gómez M, Moreno-Otero R, Sola R, Tessei 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.