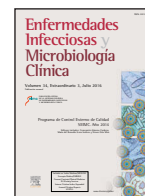




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Análisis de resultados del Programa de Control de Calidad Externo de carga viral del VIH-1, del VHC y del VHB. Año 2014

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

^aPrograma de Control de Calidad Externo SEIMC

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

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

^dDepartamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, España

^eServicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, España

RESUMEN

Palabras clave:

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

Las determinaciones de la carga viral del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), del virus de la hepatitis C (VHC) y del virus 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 disponen de herramientas que garantizan la fiabilidad de sus resultados; entre ellas se encuentran los programas de intercomparación externos, como es el Programa de Control de Calidad Externo de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). En el presente número se muestra el análisis de resultados del Programa de Control de Calidad Externo SEIMC de carga viral de estos virus, incluyendo el genotipado del VHC, realizado durante el año 2014.

En el control de VIH-1 se remitieron 5 estándares, de los que uno (plasma humano seronegativo) no contenía el virus y los otros 4 consistían en plasma de 3 pacientes virémicos distintos en un intervalo de concentraciones entre 2-5 log₁₀ copias/ml. Con el fin de analizar la repetibilidad, 2 de ellos eran idénticos. Una parte significativa de los laboratorios obtuvo de uno a varios resultados fuera de los límites aceptables (media ± 0,25 log₁₀ copias/ml), dependiendo del estándar y del método empleado: en promedio el 30,8% de los centros. La repetibilidad fue excelente y el 95,8% de los laboratorios obtuvieron resultados aceptables (Δ < 0,5 log₁₀ copias/ml). En los controles de VHC y VHB se remitieron 2 estándares con diferente contenido del virus. La mayor parte de los participantes (un 83,7% en el caso del VHC y un 87,9% en el del VHB) obtuvo ambos resultados dentro de los límites de la media ± 1,96 desviaciones estándar log₁₀ UI/ml.

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

© 2016 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Analysis of the results of the HIV-1, HCV and HBV viral load of SEIMC External Quality Control Program. Year 2014

ABSTRACT

Keywords:

HBV
HCV
HIV-1
Viral load
External quality control
Proficiency

Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) viral load determinations are among the most relevant markers for the follow up of patients infected with these viruses. External quality control tools are crucial to ensure the accuracy of results obtained by microbiology laboratories. This article summarizes the results obtained from the 2014 SEIMC (Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology) External Quality Control Programme for HIV-1, HCV, and HBV viral loads.

*Autor para correspondencia.

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

In the HIV-1 program, a total of 5 standards were sent. One standard consisted in seronegative human plasma, while the remaining 4 contained plasma from 3 different viremic patients, in the range of 2-5 log₁₀ copies/mL; 2 of these standards were identical aiming to determine repeatability. A significant proportion of the laboratories (30.8% on average) obtained values out of the accepted range (mean ± 0.25 log₁₀ copies/mL), depending on the standard and on the method used for quantification. Repeatability was excellent, with up to 95.8% of laboratories reporting results within the limits ($\Delta < 0.5$ log₁₀ copies/mL). The HBV and HCV program consisted of 2 standards with different viral load contents. Most of the participants, 83.7% in the case of HCV and 87.9% in the HBV, obtained all the results within the accepted range (mean ± 1.96 standard deviations log₁₀ IU/mL).

Data from this analysis reinforce the utility of proficiency programmes to ensure the quality of the results obtained by a particular laboratory, as well as the importance of the post-analytical phase on the overall quality. Due to the remarkable interlaboratory variability, it is advisable to use the same method and the same laboratory for patient follow up.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La determinación cuantitativa de genoma (carga viral) del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), el virus de la hepatitis B (VHB) y el virus de la hepatitis 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. El Programa de Control de Calidad Externo de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) dispone del control de calidad externo de carga viral de los virus VIH-1, VHC y VHB 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 dichos virus. Además, el control de carga viral del VHC incluye la realización del genotipado de este en uno de los estándares remitidos. 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 del año 2014 se remitió a los participantes 5 estándares de plasma congelado (VIH-1/14 a VIH-5/14) que habían sido analizados y valorados para el contenido en ARN del VIH-1. Cuatro de ellos contenían cantidades conocidas de ARN y se obtuvieron de plasma procedente de 3 pacientes distintos con viremia buscando contenidos teóricos dentro de un intervalo de 2-5 unidades logarítmicas. Los estándares VIH-4/14 y VIH-5/14 eran idénticos y además estaban destinados a analizar la repetibilidad de los resultados intra-laboratorio (repetitividad de resultados en un mismo momento y bajo las mismas condiciones). El estándar VIH-3/14 se preparó con plasma de un paciente seronegativo. Previamente a su envío, las muestras se analizaron en 3 laboratorios diferentes por los métodos de PCR-RT (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real) de Roche Diagnostics (Taqman®), de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott) y de Siemens Diagnostics (VERSANT® kPCR), que confirmaron los valores teóricos, tal como se muestra en la tabla 1. 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-3/14 como control negativo (plasma seronegati-

Tabla 1

Control del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1): resultados de los diferentes laboratorios de referencia (LR) 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-1/14 | 16.560 | 4,22 | 28.740 | 4,46 | 28.800 | 4,46 |
| VIH-2/14 | 110 | 2,03 | 162 | 2,21 | 423 | 2,63 |
| VIH-3/14 | < 40 | - | < 37 | - | < 20 | - |
| VIH-4/14 | 6.600 | 3,82 | 6.632 | 3,82 | 11.628 | 4,07 |
| VIH-5/14 | 7.057 | 3,85 | 7.146 | 3,85 | 11.800 | 4,07 |

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

vo). En este caso, se consideraron válidos aquellos resultados que se informaron por debajo del límite de detección de la técnica utilizada, por lo que cualquier cuantificación se consideraría un resultado falso positivo. Para los estándares VIH-4/14 y VIH-5/14 (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 ± 0,25 log₁₀. Los estándares VIH-4/14 y VIH-5/14 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 logarítmicas². Se consideró aceptable cuando $\Delta < 0,5$ log₁₀ copias/ml, valor que tiene en cuenta tanto la variabilidad técnica²⁻⁸ 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 VIH-1

Se envió el material de control a 103 participantes, de los que 95 remitieron respuesta (92,2%). El método más empleado fue la PCR-RT Taqman® de Roche (77,9%), seguido por la PCR-RT de Abbott (7,4%), la kPCR de Siemens (6,3%), el NASBA-RT Nuclisens® de bioMérieux (4,2%), y el resto de participantes (4, el 4,2%) informaron otras técnicas distintas (PCR-RT de Qiagen Diagnostics y PCR-RT *in house*). Como ya sucedió el año anterior, en esta edición del control de carga viral todos los centros participantes reportaron técnicas de PCR-RT.

En la tabla 2 se resumen los resultados para cada método comercial. Desde el punto de vista de la especificidad, los resultados fueron muy buenos, puesto que ningún participante detectó genoma de

Tabla 2

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

| | Estándar | | | | |
|--------------------------------------|-----------|--------------------|--------------|-----------|--------------------|
| | VIH-1/14 | VIH-2/14 | VIH-3/14 | VIH-4/14 | VIH-5/14 |
| TaqMan® Roche | | | | | |
| Media log ₁₀ ^a | 4,46 | 2,77 | Indetectable | 3,84 | 3,84 |
| Límites aceptables ^b | 4,21-4,71 | 2,52-3,02 | — | 3,59-4,09 | 3,59-4,09 |
| Dentro de límites | 72/74 | 63/72 ^c | 74/74 | 66/74 | 65/73 ^d |
| PCR-RT Abbott | | | | | |
| Media log ₁₀ ^a | 4,25 | 2,25 | Indetectable | 3,87 | 3,87 |
| Límites aceptables ^b | 4,00-4,50 | 2,00-2,50 | — | 3,62-4,12 | 3,62-4,12 |
| Dentro de límites | 6/7 | 3/7 | 7/7 | 6/7 | 6/7 |
| VERSANT® kPCR Siemens | | | | | |
| Media log ₁₀ ^a | 4,38 | 2,29 | Indetectable | 3,66 | 3,66 |
| Límites aceptables ^b | 4,13-4,63 | 2,04-2,54 | — | 3,41-3,91 | 3,41-3,91 |
| Dentro de límites | 5/6 | 4/6 | 6/6 | 4/6 | 4/6 |
| Nuclisens®-RT bioMérieux | | | | | |
| Media log ₁₀ ^a | 4,56 | 2,64 | Indetectable | 3,32 | 3,32 |
| Límites aceptables ^b | 4,31-4,81 | 2,39-2,89 | — | 3,07-3,57 | 3,07-3,57 |
| Dentro de límites | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 4/4 | 3/4 |

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

^aSe calculó sobre cada método, excluyendo los valores aberrantes.^bMedia \pm 0,25 log₁₀ copias/ml.^cPara este estándar el número total fue de 72 en vez de 74, porque 2 centros no realizaron la determinación alegando no disponer de suficiente muestra (volumen 1,5 ml/vial).^dPara este estándar el número total fue de 73 en vez de 74, porque 1 centro no realizó la determinación alegando no disponer de suficiente muestra (volumen 1,5 ml/vial).

VIH-1 en el estándar negativo (VIH-3/14). En cuanto a la variabilidad de los resultados, la mayor parte de los que se encuentran fuera del intervalo de aceptación se correspondieron con el estándar VIH-2/14 (estándar con menor carga viral). Asimismo, según los datos que se muestran en la tabla 2 se puede deducir la existencia de una 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. En su conjunto, estos resultados son similares a los obtenidos en el Programa de Control de Calidad SEIMC de otros años³⁻⁸.

En cuanto a los métodos de PCR-RT, el comercializado por Roche (Taqman®) obtiene un 7,4% de resultados fuera del límite de aceptación, el de Abbott un 20,0%, el de Siemens un 23,3%, y el de bioMérieux un 5,0%, si bien hay que tomar estos 3 últimos datos con mucha cautela, pues el número de participantes que utilizaron estos métodos es muy bajo (de 7 a 4, dependiendo de la técnica).

Por otro lado, todos los centros detectaron bien al menos uno de los 5 estándares. Mientras que un 20,9% de los participantes falló en uno de los estándares, un 4,4% falló en 2, un 2,2% en 3, y un 3,3% en 4.

En cuanto a los resultados del estudio de repetibilidad, el 95,8% de los participantes obtuvieron resultados reproducibles ($\Delta < 0,5$ log₁₀), siendo la diferencia entre ambos valores inferior al 0,1 log₁₀ en la mayoría de los centros. Por lo que respecta a las excepciones, hubo 2

casos en los que no se informó la carga viral de uno de los 2 estándares y otros 2 casos que no fueron reproducibles.

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. Cuando se observa la variabilidad intermétodo (incluso eliminando los resultados extremos y aberrantes) esta se aproxima, y en ocasiones supera, a las 0,5 unidades logarítmicas (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 el porcentaje de valores que se sitúa fuera del intervalo de aceptación de $\pm 0,25$ log₁₀ copias/ml alrededor de la media para cada técnica no fue muy alto, y que la mayor experiencia se obtiene con la técnica PCR-RT de Roche. El resto de métodos se utilizan en pocos centros, por lo que las conclusiones obtenidas a partir del análisis de sus datos se deben tomar con cautela.

Como es habitual en este tipo de control, se introdujeron 2 muestras idénticas con el fin de evaluar la repetibilidad de los resultados de un determinado laboratorio. Los datos obtenidos son buenos pese a que 4 centros no superasen la prueba.

Cuando se analiza la especificidad, los resultados también son muy buenos. No hubo ningún resultado falsamente positivo, aunque sí hubo uno falsamente negativo.

A modo de resumen, los datos aquí analizados pueden considerarse aceptables y coherentes con lo esperado, a pesar de algunas desviaciones, que muestran 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 dichas desviaciones, entre ellas la participación en ejercicios de intercomparación externos²⁻¹¹ como los representados por el Programa de Control de Calidad Externo 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-1/14 y VHC-2/14) —obtenidos de 2 pacientes distintos con viremia por 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. Previamente a su envío, ambos estándares habían sido analizados por 2 laboratorios diferentes. Cada uno de ellos empleó un método comercial diferente, por lo que se confirmaron los valores teóricos aproximados (tabla 3): PCR-RT de Roche Diagnostics (Taqman®) y PCR-RT Abbott de Abbott Diagnostics. También se solicitó la realización del genotipado a todos los participantes que en sus centros dispusieran de dicha técnica. En esta ocasión el genotipado se debía

Tabla 3

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

| Estándar | PCR-RT Abbott (LR-A) | | PCR-RT Taqman® Roche (LR-B) | |
|----------|----------------------|-------------------|-----------------------------|-------------------|
| | UI/ml | Log ₁₀ | UI/ml | Log ₁₀ |
| VHC-1/14 | 421.050 | 5,62 | 339.748 | 5,53 |
| VHC-2/14 | 3.430 | 3,53 | 6.983 | 3,84 |

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

realizar con el estándar VHC-1/14 y su valor asignado fue genotipo 1b, realizado mediante la técnica de Abbott PCR-RT HCV.

Criterios de evaluación

Los 2 estándares se analizaron de forma cuantitativa (\log_{10} UI/ml) comparando los resultados individuales obtenidos por cada participante respecto al intervalo de confianza (IC) del 95% (media \pm 1,96 desviaciones estándar [DE]) de todos los que utilizaron su mismo método comercial^{12,13}. 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 99 laboratorios, de los que respondieron 92 (92,9%). De ellos, 74 realizaron también el genotipado del VHC, lo que supone el 80,4% del total de participantes que enviaron hoja de respuesta.

La técnica utilizada mayoritariamente por los participantes para la realización de la carga viral fue la amplificación por PCR-RT, especialmente con el sistema comercial Taqman® de Roche (74 centros, el 80,4%). Doce participantes (13,0%) utilizaron la PCR-RT de Abbott, 3 la PCR-RT de Qiagen Diagnostics (3,3%), 2 el bDNA de Siemens (2,2%) y uno PCR *in house* (PCR de desarrollo propio).

En la tabla 4 se resumen los datos para el total de participantes. La variabilidad fue similar en términos de la DE respecto a la media en ambos estándares (VHC-1/14 y VHC-2/14). Cuando se comparan todos los resultados informados independientemente de la técnica empleada, el 89,1% se encuentra dentro del intervalo de aceptación. Cabe destacar que 5 centros obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable cuando el cálculo se hizo sobre el total de participantes para todos los métodos y 8 cuando se compararon solo con los que emplearon su misma técnica. De forma general, y una vez eliminados los valores aberrantes, los resultados obtenidos fueron buenos, aunque algo inferiores a los del año anterior.

En la tabla 5 se muestran los resultados comparados por cada una de las técnicas con la media de los que usan su mismo método, aunque dado el bajo número de participantes para algunas de ellas (PCR-RT Abbott), 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 mayoría de los valores anómalos se obtuvieron con la técnica de PCR-RT Taqman® de Roche, ya que fue la más ampliamente utilizada (74 participantes). Es por esto por lo que las conclusiones que de ella se derivan son las más consistentes. Mediante esta técnica, 19 de los 148 resultados analizados (12,8%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 11 se obtuvieron con el estándar VHC-1/14 y 8 con el VHC-2/14. Se detectó carga viral en todas las ocasiones en que se empleó esta técnica. De los 5 centros (6,7%) que no detectaron ninguno de los 2 valores dentro del intervalo de aceptación, 2 de ellos pudieron deberse a un posible error de etiquetado

Tabla 4

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

| | Estándar | |
|-------------------------------|-----------|-----------|
| | VHC-1/14 | VHC-2/14 |
| Media \log_{10} | 5,53 | 3,76 |
| Media $\log_{10} \pm 1,96$ DE | 5,23-5,83 | 3,43-4,09 |
| Dentro de límites | 80/92 | 84/92 |

DE: desviación estándar.

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

Tabla 5

Control del virus de la hepatitis C (VHC): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado*

| | Estándar | |
|---------------------------------|-----------|-----------|
| | VHC-1/14 | VHC-2/14 |
| TaqMan® Roche | | |
| Media \log_{10} | 5,5 | 3,8 |
| Límites aceptables ^b | 5,26-5,75 | 3,55-4,05 |
| Dentro de límites | 63/74 | 66/74 |
| PCR-RT Abbott | | |
| Media \log_{10} | 5,53 | 3,59 |
| Límites aceptables ^b | 5,19-5,87 | 3,30-3,88 |
| Dentro de límites | 10/12 | 10/12 |

*Expresado en \log_{10} UI/ml.

^bMedia \pm 1,96 desviaciones estándar.

(fase preanalítica) o de consignación de los resultados en la página web (fase post-analítica), ya que los valores de los estándares parecían estar intercambiados.

En cuanto al resto de métodos, cabe resaltar que el sistema PCR-RT de Abbott (empleado por 12 centros) presentó el 83,3% de sus valores dentro del intervalo de aceptación. Por lo que respecta a los resultados que quedaron fuera de dicho intervalo, 2 se correspondieron con el estándar VHC-1/14 y otros 2 con el VHC-2/14.

Los datos de los métodos bDNA de Siemens y PCR-RT de Qiagen Diagnostics no se muestran porque los emplearon muy pocos centros.

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 comparables entre sí.

De los 92 participantes que contestaron al control, 74 realizaron el genotipado del VHC (80,4%). El 93,2% de estos detectó un genotipo 1b, coincidente con el valor asignado, el 4,1% lo reportó como 1, el 1,4% como genotipo 2 y el 1,4% restante como 2a/2c. Estos 2 últimos resultados discrepantes (genotipo 2 y 2a/2c) se corresponden con los 2 participantes que en la carga viral habían cometido un posible error de fase no analítica al realizar el genotipado en el estándar equivocado y confirmándose así la idea de que se trató de errores preanalíticos.

El método utilizado de forma mayoritaria por los centros participantes fue la hibridación inversa (68,9%), seguido de la PCR-RT (14,9%) y de la secuenciación (13,5%). En 2 casos no se informó ni del método ni de la casa comercial (2,7%). La marca comercial más empleada fue Siemens, que dispone de reactivos tanto para la realización de una hibridación inversa como para llevar a cabo una secuenciación. Cabe destacar que todos los centros que utilizaron los reactivos de PCR-RT de Abbott (10), los que realizaron secuenciación (7) y PCR-RT de desarrollo propio (1) y la secuenciación de Trugene® de Siemens (3), reportaron el genotipo como 1b, del mismo modo que la mayoría de los 47 centros que emplearon INNOLIPA HCV (Siemens), mientras que 3 de los 4 que emplearon Linear Array (Roche) lo reportaron como genotipo 1 y el restante como genotipo 2 (tabla 6).

Comentarios y conclusiones al control VHC

Desde el punto de vista de valoración general de los resultados, los aquí presentados deben considerarse 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 podría argumentar que los criterios establecidos por el programa han

Tabla 6

Análisis de los resultados del genotipado del virus de la hepatitis C (VHC) (estándar VHC-1/14)

| Método | Marca | Genotipo 1a ^a | Genotipo 1b ^a | Genotipo 1 ^a | Genotipo 2 | Genotipo 2a/2c ^a | Total ^b |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|------------|-----------------------------|--------------------|
| Hibridación inversa | INNOLiPA HCV (Siemens) | – | 46 (97,9) | – | – | 1 (2,1) | 47 (63,5) |
| | Linear array HCV (Roche) | – | – | 3 (75,0) | 1 (25,0) | – | 4 (5,4) |
| PCR-RT | Abbott RT HCV | – | 10 (100) | – | – | – | 10 (13,5) |
| | Desarrollo propio | – | 1 (100) | – | – | – | 1 (1,4) |
| Secuenciación | Trugene (Siemens) | – | 3 (100) | – | – | – | 3 (4,1) |
| | Desarrollo propio | – | 7 (100) | – | – | – | 7 (9,5) |
| Indefinido ^c | – | – | 2 (100) | – | – | – | 2 (2,7) |
| Total | – | – | 69 (93,2) | 3 (4,1) | 1 (1,4) | 1 (1,4) | 74 (100) |

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

^aEntre paréntesis, porcentaje (%) respecto a los centros que realizan su mismo método y marca.^bEntre paréntesis, porcentaje (%) respecto al total de centros participantes.^cNo se especifica método ni marca.

sido demasiado permisivos, si bien hay que señalar que la DE ha sido inferior a 0,5 unidades logarítmicas para ambos estándares, cifra que se puede considerar aceptable desde el punto de vista del seguimiento clínico^{14,15}, más teniendo en cuenta que se trata de variabilidad interlaboratorio. Por último, no se detectaron resultados falsamente negativos.

Por lo que se refiere al análisis mediante técnicas comerciales, no es posible obtener datos concluyentes debido a la utilización mayoritaria de un determinado método. Cabe resaltar la importancia de todas las fases del proceso diagnóstico microbiológico, incluyendo la fase preanalítica, según lo comentado en el apartado anterior.

Control de calidad del VHB

Características del material remitido

En el control de carga viral del VHB se remitieron 2 estándares de plasma congelado (VHB-1/14 y VHB-2/14) obtenidos de 2 pacientes distintos con viremia por 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. Previamente a su envío, ambos estándares habían sido analizados por 2 laboratorios diferentes y cada uno de ellos empleó un método comercial diferente, confirmándose los valores teóricos aproximados (tabla 7): PCR-RT de Roche Diagnostics (Taqman[®]) y de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott).

Criterios de evaluación

Los 2 estándares se analizaron de forma cuantitativa (\log_{10} UI/ml) comparando los resultados individuales obtenidos por cada participante respecto al IC del 95% (media \pm 1,96 DE) de todos los que utili-

Tabla 7

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

| Estándar | PCR-RT Abbott (LR-A) | | PCR-RT Taqman [®] Roche (LR-B) | |
|----------|----------------------|-------------------|---|-------------------|
| | UI/ml | Log ₁₀ | UI/ml | Log ₁₀ |
| VHB-1/14 | 108.230 | 5,03 | 49.100 | 4,69 |
| VHB-2/14 | 539 | 2,73 | 536 | 2,73 |

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

zaron su mismo método comercial^{12,13}. Al igual que con el control del VIH-1 y del VHC, para el cálculo de la media y de la DE se excluyeron los valores extremos y aberrantes¹.

Resultados del control VHB

En este control se remitieron muestras a 91 laboratorios (4 centros más que el año anterior), de los que 78 respondieron (85,7%). Como sucede con los otros controles de carga viral (VIH-1 y VHC), el método utilizado por la gran mayoría de los participantes fue la PCR-RT por el sistema Cobas Taqman[®] de Roche (62 centros, el 79,5%), seguida a distancia por la PCR-RT de Abbott (11 participantes, 14,1%) y la PCR-RT de Qiagen Diagnostics (3 centros, 3,8%). De los otros 2 participantes, uno empleó el sistema VERSANT[®] bDNA de Siemens y el otro una PCR de desarrollo propio.

En la tabla 8 se resumen los datos para el total de participantes. La variabilidad fue mayor en términos de la DE respecto a la media para el estándar VHB-1/14 (estándar de mayor carga viral). Del total de resultados reportados, alrededor del 91,8% se encontraba dentro del intervalo de aceptación. Cabe destacar que 4 participantes obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable (uno de ellos por posible error en la fase pre o post-analítica). En todas las ocasiones se detecta carga viral en ambos estándares. En general, una vez eliminados los valores aberrantes, los resultados fueron buenos.

En la tabla 9 se analizan los resultados de las técnicas mayoritariamente empleadas en comparación con la media de los que usan su misma técnica. No se muestran los datos de los métodos bDNA de Siemens y PCR-RT de Qiagen Diagnostics porque los emplearon muy pocos centros. En general, los valores obtenidos quedaban comprendidos dentro del margen aceptable (IC del 95% de la media de participantes por cada técnica) y la mayoría de los valores anómalos se

Tabla 8

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

| | Estándar | |
|-------------------------------|-----------|-----------|
| | VHB-1/14 | VHB-2/14 |
| Media \log_{10} | 4,81 | 2,51 |
| Media $\log_{10} \pm$ 1,96 DE | 4,38-5,24 | 2,24-2,79 |
| Dentro de límites | 70/78 | 71/78 |

DE: desviación estándar.

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

Tabla 9

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

| | Estándar | |
|---------------------------------|-----------|-----------|
| | VHB-1/14 | VHB-2/14 |
| TaqMan® Roche | | |
| Media log ₁₀ | 4,74 | 2,50 |
| Límites aceptables ^b | 4,41-5,08 | 2,23-2,77 |
| Dentro de límites | 56/62 | 56/62 |
| PCR-RT Abbott | | |
| Media log ₁₀ | 5,05 | 2,54 |
| Límites aceptables ^b | 4,79-5,30 | 2,25-2,83 |
| Dentro de límites | 10/11 | 11/11 |

^aExpresado en log₁₀ UI/ml.

^bMedia ± 1,96 desviaciones estándar.

obtuvieron con la técnica de PCR-RT Taqman® de Roche, ya que fue la más ampliamente utilizada (62 participantes), por lo que las conclusiones que de ella se derivan son las más consistentes. Mediante esta técnica, un total de 12 resultados de 124 (9,7%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 6 se obtuvieron con el estándar VHB-1/14 y otros 6 con el VHB-2/14; se detectó carga viral en todas las ocasiones. Por otro lado, en uno de los 4 centros que no presentaron ninguno de sus valores dentro del intervalo de aceptación, la causa de dicha desviación podría deberse a un error de transcripción de los resultados en la página web (fase post-analítica) o a un error de etiquetado (fase preanalítica), ya que parecía que los resultados de ambos estándares estaban intercambiados.

En cuanto al sistema PCR-RT de Abbott, 10 de los 11 centros participantes que emplean esta técnica tienen ambos valores dentro del intervalo de aceptación (90,9%). El centro restante presentó uno de los estándares (el de mayor carga) fuera del intervalo de aceptación y reportó una carga viral > 70.000 UI/ml, lo que obligó a considerar este resultado como "no valorable", ya que no permitía realizar los cálculos.

Comentarios y conclusiones del control VHB

Desde el punto de vista de valoración general de los resultados, los aquí presentados deben considerarse aceptables y coherentes con lo esperado. La mayor parte de los laboratorios participantes incluyen sus resultados individuales dentro del intervalo de aceptación (IC del 95%). No obstante, es importante que los laboratorios mantengan, de forma individual, 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.

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 Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Pérez JL, Gimeno Cardona 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, Ovies MR, 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 13:8-13.
5. Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Ovies MR, 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. 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, del VHC y del VHB. Año 2010. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29 Supl 5:8-14.
8. Documentos CCS [consultado 10-2015]. Disponible en: <http://www.seimc.org/controldecalidadseimc>
9. 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.
10. 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.
11. Muyldermans G, Debaisieux L, Fransen K, Marisens 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.
12. Niesters HGM. QCMD 2005 hepatitis C virus (HCVRNA05) proficiency programme. Final report. Glasgow: Quality Control for Molecular Diagnostics; 2005. Disponible en: www.qcmd.org
13. 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.
14. 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.
15. 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.