



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 2015

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

^aPrograma de Control de Calidad Externo SEIMC

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

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

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

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

RESUMEN

Palabras clave:

Virus de la hepatitis B
Virus de la hepatitis C
Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1
Carga viral
Control de calidad externo
Intercomparación

Fundamentos: 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 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 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 SEIMC de carga viral de estos virus, incluyendo el genotipado del VHC, realizado durante el año 2015.

Métodos y resultados: En el control del 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 2-5 log₁₀ copias/ml; 2 de ellos eran idénticos, con el fin de analizar la repetibilidad. 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 26,6% de los centros. La repetibilidad fue excelente, y el 97,9% de los laboratorios obtuvo resultados aceptables (Δ < 0,5 log₁₀ copias/ml). En los controles del VHC y del VHB se remitieron 2 estándares con diferente contenido del virus. La mayor parte de los participantes, un 88,5% en el caso del VHC y un 85,5% en el del VHB, obtuvo ambos resultados dentro de los límites de la media ± 1,96 DE log₁₀ UI/ml.

Conclusiones: 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.

© 2017 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

Keywords:

Hepatitis B virus
Hepatitis C virus
Human immunodeficiency virus type 1
Viral load
External quality assessment
Proficiency

Analysis of the results of the SEIMC External Quality Assessment Scheme for HIV-1, HCV and HBV viral load 2015

ABSTRACT

Background: Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and hepatitis B (HBV) and C virus (HCV) viral load determinations are among the most relevant markers for the follow up of patients infected with these viruses. External quality assessment schemes are crucial to ensure the accuracy of results obtained by microbiology laboratories. This article summarises the results obtained in the 2015 SEIMC External Quality Assessment Scheme for HIV-1, HCV, and HBV viral loads.

Methods and results: In the HIV-1 programme, a total of 5 standards were sent. One standard consisted of seronegative human plasma, while the remaining four contained plasma from three different viraemic pa-

*Autor para correspondencia.

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

tients, 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 (26.6% on average) obtained values outside the accepted range (mean \pm 0.25 log₁₀ copies/mL), depending on the standard and method used for quantification. Repeatability was excellent, with up to 97.9% of laboratories reporting results within the limits ($\Delta < 0.5$ log₁₀ copies/mL). The HBV and HCV programmes consisted of two standards with different viral load contents. Most of the participants, 88.5% in the case of HCV and 85.5% in the case of HBV, obtained all results within the accepted range (mean \pm 1.96 SD log₁₀ IU/mL).

Conclusions: 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 in the overall quality. Due to the notable interlaboratory variability, it is advisable to use the same method and the same laboratory for patient follow up.

© 2017 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

Introducción

La determinación de carga viral del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), del virus de la hepatitis B (VHB) y del 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 de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) —CCS— dispone del control de calidad externo de carga viral de los virus VIH-1, VHC y VHB. Estos controles son de participación anónima y voluntaria, estando a disposición de los profesionales que desarrollan su actividad en el laboratorio e, indirectamente, de los clínicos que atienden a los pacientes infectados por esos virus. Además, el control de carga viral del VHC incluye la realización de su genotipado.

En este artículo se resumen las principales conclusiones y enseñanzas derivadas del análisis conjunto de los resultados remitidos por los participantes en la edición del año 2015.

Control de calidad del VIH-1

Características del material remitido

En la ronda correspondiente al año 2015 se remitió a los participantes 5 estándares de plasma congelado, denominados VIH-1/15, VIH-2/15, VIH-3/15, VIH-4/15 y VIH-5/15, que se habían analizado y valorado 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-2/15 y VIH-4/15 eran idénticos, y estaban destinados, además, a analizar la repetibilidad de los resultados intralaboratorio (repetitividad de resultados en un mismo momento y bajo las mis-

mas condiciones). El estándar VIH-5/15 se preparó con plasma de un paciente seronegativo. Las muestras se analizaron, previamente a su envío, en 3 laboratorios diferentes por los métodos de reacción en cadena de la polimerasa *real time* (PCR-RT) de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]), de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott) y de Siemens Diagnostics (VERSANT® kPCR), tal como se muestra en la tabla 1, quienes confirmaron los valores teóricos.

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-5/15 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, por lo que cualquier cuantificación se correspondería con un resultado falso positivo. Para los estándares VIH-2/15 y VIH-4/15 (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 $\pm 0,25$ log₁₀. Los estándares VIH-2/15 y VIH-4/15 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.

Tabla 1

Control del virus de la inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1): resultados de los diferentes laboratorios (L) expertos para cada estándar y técnica^a

Estándar	PCR-RT Abbott (L-A)		kPCR Siemens (L-B)		PCR-RT TaqMan Roche (L-C)	
	Copias/ml	Log ₁₀	Copias/ml	Log ₁₀	Copias/ml	Log ₁₀
VIH-1/15	36.077	4,56	39.400	4,60	51.400	4,71
VIH-2/15	3.094	3,49	2.140	3,33	2.430	3,39
VIH-3/15	310	2,49	1.110	3,05	351	2,55
VIH-4/15	2.515	3,40	3.423	3,53	2.290	3,36
VIH-5/15	< 40	-	< 37	-	< 20	-

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

Resultados del control VIH-1

Se envió el material de control a 100 participantes, de los que 94 remitieron respuesta (94,0%). El método más empleado fue la PCR-RT Taqman® de Roche (80,8%), seguido por la PCR-RT de Abbott (8,6%), la kPCR de Siemens (6,4%), la PCR-RT de Qiagen (2,1%) y el resto de participantes (2,1%) informaron otras técnicas distintas (NASBA-RT Nuclisens® de bioMérieux y PCR-RT *in house*). Todos los participantes emplearon 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 VIH-1 en el estándar negativo (VIH-5/15). 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-3/15 (estándar con menor carga viral). Asimismo, de 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. Estos resultados, en su conjunto, son similares a los obtenidos en el Programa de CCS de otros años³⁻⁸.

En cuanto a los métodos de PCR-RT, el comercializado por Roche (Taqman®) obtiene un 6,6% de resultados fuera del límite de aceptación, el de Abbott un 5,0% y el de Siemens un 6,7%, todos ellos muy similares, si bien hay que tomar estos 2 últimos datos con mucha cautela pues el número de participantes que utilizaron estos métodos es muy bajo (de 8 a 6, dependiendo de la técnica).

Por otro lado, todos los centros informaron bien al menos 1 de los 5 estándares. Mientras que un 18,0% de los participantes falló en 1 de los estándares, un 4,3% en 2 y otro 4,3% en 4.

En cuanto a los resultados del estudio de repetibilidad, el 97,9% de los participantes obtuvo resultados reproducibles ($\Delta < 0,5 \log_{10}$); siendo la diferencia entre ambos valores inferior al $0,1 \log_{10}$ en la mayoría de los centros. Por lo que respecta a las excepciones, hubo 2 casos en los que los resultados no fueron reproducibles.

Comentarios y conclusiones del control VIH-1

En términos generales, los resultados aquí presentados dan una idea de la variabilidad que se puede obtener en el laboratorio en la práctica diaria y con una prueba de importante 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, 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 el porcentaje de valores que se sitúa fuera del intervalo de aceptación de $\pm 0,25 \log_{10}$ 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 Roche. El resto de métodos se emplean por pocos centros, por lo que las conclusiones obtenidas a partir del análisis de sus datos deben ser tomadas 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 2 centros no superasen la prueba.

Cuando se analiza la especificidad, los resultados también son muy buenos. No hubo ningún resultado falsamente positivo ni 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 aparición de dichas desviaciones, entre ellas, la participación en ejercicios de intercomparación externos²⁻¹¹, como los representados por el Programa de CCS.

Control de calidad del VHC

Características del material remitido

En el control de carga viral del VHC se remitieron 2 estándares de plasma congelado (VHC-1/15 y VHC-2/15) obtenidos de 2 pacientes

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-1/15	VIH-2/15	VIH-3/15	VIH-4/15	VIH-5/15
PCR-RT TaqMan Roche					
Media \log_{10} ^a	4,62	3,39	2,54	3,39	Indetectable
Límites aceptables ^b	4,37-4,87	3,14-3,64	2,29/2,79	3,14-3,64	-
Dentro de límites	71/76	71/76	64/76	73/76	76/76
PCR-RT Abbott					
Media \log_{10} ^a	4,66	3,40	2,54	3,40	Indetectable
Límites aceptables ^b	4,41-4,91	3,14-3,64	2,29-2,79	3,15-3,64	-
Dentro de límites	8/8	8/8	6/8	8/8	8/8
Versant® kPCR Siemens					
Media \log_{10} ^a	4,63	3,48	3,00	3,48	Indetectable
Límites aceptables ^b	4,38-4,88	3,23-3,73	2,75-3,25	3,23-3,73	-
Dentro de límites	5/6	6/6	5/6	6/6	6/6

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *real time*.^aSe calculó sobre cada método, excluyendo los valores aberrantes.^bMedia $\pm 0,25 \log_{10}$ copias/ml.

distintos con viremia por 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, previamente a su envío, habían sido analizados por 2 laboratorios expertos diferentes, cada uno de los cuales empleó un método comercial diferente, confirmándose los valores teóricos aproximados (tabla 3): PCR-RT de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]) y de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott). 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 realizar con el estándar VHC-1/15 y su valor asignado fue genotipo 2, realizado por PCR-RT de Abbott (genotipo 2) e hibridación inversa INNOLiPA –Versant, Siemens– (genotipo 2a/2c). De este modo, se consideraron respuestas válidas todas las que se informaron dentro del genotipo 2 (incluyendo los diferentes subtipos).

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 DE [desviación estándar]) 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 93 (93,9%). De ellos, 73 realizaron también el genotipado del VHC, lo que supone el 78,5% 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 (72 centros, el 77,4%). Doce participantes (12,9%) utilizaron la PCR-RT de Abbott, 3 la PCR-RT de Qiagen Diagnostics (3,2%), 5 la kPCR Versant de Siemens (5,4%) y 1 la PCR *in house* (PCR de desarrollo propio).

La tabla 4 resume los datos para el total de participantes. La variabilidad fue similar en términos de desviación respecto a la media en ambos estándares (VHC-1/15 y VHC-2/15). Cuando se comparan todos los resultados informados, independientemente de la técnica empleada, el 91,3% se encuentra dentro del intervalo de aceptación. Cabe destacar que 2 centros obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable cuando el cálculo se hizo sobre el total de participantes para todos los métodos y ninguno 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 considerados buenos.

La tabla 5 resume 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 y kPCR Siemens), estos resultados deben tomarse con pru-

Tabla 3

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

Estándar	PCR-RT Abbott (L-A)		PCR-RT Taqman Roche (L-B)	
	UI/ml	Log ₁₀	UI/ml	Log ₁₀
VHC-1/15	212.910	5,33	145.668	5,16
VHC-2/15	3.612	3,56	4.139	3,62

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

Tabla 4

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

	Estándar	
	VHC-1/15	VHC-2/15
Media log ₁₀	4,74	3,69
Media log ₁₀ \pm 1,96 DE	4,08-5,41	3,37-4,00
Dentro de límites	84/91 ^b	86/93

DE: desviación estándar.

^aExpresados en log₁₀ UI/ml.

^bDos centros no realizaron la determinación en este estándar.

Tabla 5

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

	Estándar	
	VHC-1/15	VHC-2/15
PCR-RT TaqMan Roche		
Media log ₁₀	4,77	3,73
Límites aceptables ^b	4,20-5,34	3,55-3,92
Dentro de límites	65/70 ^c	70/72
PCR-RT Abbott		
Media log ₁₀	4,79	3,51
Límites aceptables ^b	4,19-5,40	3,42-3,60
Dentro de límites	12/12	10/12
kPCR Versant (Siemens)		
Media log ₁₀	4,09	2,68
Límites aceptables ^b	3,69-4,48	2,49-2,86
Dentro de límites	5/5	4/5

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

^aExpresado en Log₁₀ UI/ml.

^bMedia \pm 1,96 DE.

^cDos centros no realizaron la determinación en este estándar.

dencia. En general, los valores obtenidos quedaban comprendidos dentro del margen aceptable (IC del 95% de la media de los participantes por cada técnica), destacando que debido a la técnica, PCR-RT Taqman® Roche fue la más ampliamente utilizada (72 participantes), las conclusiones que de ella se derivan son las más consistentes. Mediante esta técnica, 7 de los 142 resultados analizados (4,9%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 5 se obtuvieron con el estándar VHC-1/15 y 2 con el VHC-2/15. Se detectó carga viral en todas las ocasiones en que se empleó esta técnica. Ningún centro presentó ambos estándares fuera de los límites de aceptación. Cabe destacar que, en la gran mayoría de las ocasiones, se obtienen resultados dentro del intervalo aceptable.

En cuanto al resto de métodos, resaltar que con el sistema PCR-RT de Abbott, empleado por 12 centros, de los 24 valores informados 2 estaban fuera del intervalo de aceptación, lo que supuso que el 91,7% del total de valores informados para ambos estándares se situaran dentro de dicho intervalo. Por lo que respecta a los resultados que quedaron fuera de dicho intervalo, 2 se correspondieron con el estándar VHC-1/15 y otros 2 con el VHC-2/15. Por lo que respecta a la kPCR Versant de Siemens, del total de valores informados para ambos estándares (n = 10), 1 se encontraba fuera del intervalo de aceptación.

No se muestran los datos de los métodos PCR-RT de Qiagen y la PCR *in house* porque fueron empleados por muy pocos centros.

Aunque no es posible hacer un análisis estadístico de correlación de valores, las medias obtenidas con la PCR-RT Taqman de Roche y la de Abbott fueron bastante homogéneas y, en conjunto, podríamos decir que los métodos son razonablemente comparables entre sí.

De los 93 participantes que contestaron al control, 74 realizaron el genotipado del VHC (79,6%), aunque uno de los centros no consignó finalmente el resultado por problemas durante su realización, por lo que el porcentaje real de determinaciones informadas fue del 78,5%. Todos informaron genotipo 2 o un subtipo dentro del genotipo 2, de acuerdo a las posibilidades del método empleado.

El método que se utilizó de forma mayoritaria por los participantes fue la hibridación inversa (71,2%), seguido de la PCR-RT (19,2%) y la secuenciación (9,6%). De los 47 participantes que emplearon el sistema de INNOLiPA HCV (Versant, Siemens), 45 emplearon la versión 2.

La marca comercial más empleada fue INNOLiPA HCV de Siemens (64,4%); con ella la mayoría de los genotipos informados se correspondieron con 2a/2c (85,1%). La técnica Linear Array HCV de Roche fue usada por el 6,8% de los participantes, informando todos ellos genotipo 2 (3 de ellos especificaron que emplearon el sistema Cobas® 4800). Respecto a los equipos basados en una PCR-RT, con el de Abbott y el de desarrollo propio se informó siempre genotipo 2, mientras que con el equipo de Qiagen se informó como 2a. En cuanto a la secuenciación, todos emplearon técnicas de desarrollo propio, siendo el genotipo más informado el 2c (57,1%). Los datos se muestran en la tabla 6.

Comentarios y conclusiones del control VHC

Desde el punto de vista de valoración general de los resultados, los aquí presentados deben ser considerados como buenos y coherentes con lo esperado. La mayor parte de los participantes incluyen sus resultados individuales dentro del intervalo de aceptación (IC del 95%). Además, no se detectaron resultados falsamente negativos.

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. Cabe resaltar la importancia de todas las fases del proceso diagnóstico microbiológico, incluyendo la fase preanalítica.

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-1/15 y VHB-2/15) obtenidos de 2 pacientes

distintos con viremia por 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 se habían analizado, previamente a su envío, por 2 laboratorios diferentes, cada uno de los cuales empleó un método comercial diferente, confirmando los valores teóricos aproximados (tabla 7): PCR-RT de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]) 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 utilizaron 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 86 laboratorios, de los que 80 respondieron (93,0%). Como sucede con los otros controles de carga viral (VIH-1 y VHC), el método informado por la gran mayoría de los participantes fue la PCR-RT por el sistema Cobas Taqman® de Roche (60 centros, 75%), seguida a distancia por la PCR-RT de Abbott (11 participantes, 13,8%) y la kPCR de Versant de Siemens (5 centros, 6,2%). Por último, 3 centros realizaron la PCR-RT de Qiagen y 1 una PCR de desarrollo propio.

La tabla 8 resume los datos para el total de participantes. La variabilidad fue algo mayor en términos de desviación respecto a la media para el estándar VHB-1/15 (estándar de mayor carga viral). Del total de resultados informados, se encontraban dentro del intervalo de aceptación alrededor del 93,1%. Cabe destacar que 4 participantes obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable (2 de ellos por posible error en la fase pre- o postanalítica). En todas las ocasiones se detecta carga viral en ambos estándares. En general, una vez eliminados los resultados aberrantes, estos fueron buenos.

La tabla 9 resume los resultados comparados por las técnicas empleadas mayoritariamente con la media de los que usan su misma técnica. No se muestran los datos de la PCR-RT de Qiagen y de la de desarrollo propio, porque se emplearon por muy pocos centros. En general, los valores obtenidos quedaban comprendidos dentro del margen aceptable (IC del 95% de la media de los participantes por cada técnica). Debido a que la técnica de PCR-RT Taqman® Roche fue la más ampliamente utilizada, las conclusiones que de ella se derivan

Tabla 6
Análisis de los resultados del genotipado del virus de la hepatitis C (VHC) (estándar VHC-1/15)

Método	Marca	Genotipo 2a/2c ^a	Genotipo 2b ^a	Genotipo 2c ^a	Genotipo 2 ^a	Genotipo 2a ^a	Total ^b
Hibridación inversa	INNOLiPA HCV v1 (Siemens)	2 (100)	-	-	-	-	2 (2,7)
	INNOLiPA HCV v2 (Siemens)	-	1 (2,2)	1 (2,2)	5 (11,1)	-	45 (61,6)
	Linear array HCV (Roche)	-	-	-	5 (100,0)	-	5 (6,8)
PCR-RT	Abbott RT HCV	-	-	-	12 (100,0)	-	12 (16,4)
	Qiagen	-	-	-	-	1 (100,0)	1 (1,4)
	Desarrollo propio	-	-	-	1 (100,0)	-	1 (1,4)
Secuenciación	Desarrollo propio	2 (28,6)	-	4 (57,1)	1 (14,3)	-	7 (9,6)
Total	-	42 (57,5)	1 (1,4)	5 (6,8)	24 (32,9)	1 (1,4)	73 (100,0)

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

^aEntre paréntesis, % respecto a los centros que realizan su mismo método y marca.

^bEntre paréntesis, % respecto al total de centros participantes.

Tabla 7

Control del virus de la hepatitis B (VHB): resultados de los laboratorios (L) expertos para cada estándar^a

Estándar	PCR-RT Abbott (L-A)		PCR-RT Taqman Roche (L-B)	
	UI/ml	Log ₁₀	UI/ml	Log ₁₀
VHB-1/15	164.505	5,22	103.000	5,01
VHB-2/15	1.914	3,28	1.208	3,08

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

Tabla 8

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

	Estándar	
	VHB-1/15	VHB-2/15
Media log ₁₀	5,04	3,01
Media log ₁₀ ± 1,96 DE	4,61-5,47	2,74-3,28
Dentro de límites	76/80	73/80

DE: desviación estándar.

^aExpresados en Log₁₀ 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-1/15	VHB-2/15
PCR-RT TaqMan Roche		
Media log ₁₀	4,96	3,03
Límites aceptables ^b	4,62-5,30	2,81-3,25
Dentro de límites	54/60	55/60
PCR-RT Abbott		
Media log ₁₀	5,31	2,97
Límites aceptables ^b	5,14-5,47	2,65-3,29
Dentro de límites	9/11	8/11
kPCR Versant (Siemens)		
Media log ₁₀	5,24	2,81
Límites aceptables ^b	4,96-5,52	2,69-2,93
Dentro de límites	5/5	5/5

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

^aExpresado en Log₁₀ UI/ml.

^bMedia ± 1,96 DE.

son las más consistentes. Mediante esta técnica, un total de 11 resultados de los 120 informados (9,2%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 6 se obtuvieron con el estándar VHB-1/15 y los otros 5 con el VHB-2/15, y en todas las ocasiones se detectó carga viral. Por otro lado, en 1 de los 3 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 postanalítica) o a un error de etiquetado

(fase preanalítica), ya que parecía que los resultados de ambos estándares estaban intercambiados.

En cuanto al sistema de PCR-RT de Abbott, 8 de los 11 participantes que emplean esta técnica tienen ambos valores dentro del intervalo de aceptación (72,7%). Dos de los 3 centros restantes no presentaron ningún estándar dentro de los límites de aceptación (1 por posible error pre- o postanalítico) y 1 presentó solo 1 de los valores dentro del intervalo.

Respecto al sistema de kPCR de Siemens, todos los participantes que lo emplearon obtuvieron resultados dentro de los límites de aceptación (100,0%).

Comentarios y conclusiones del control VHB

Desde el punto de vista de valoración general de los resultados, los aquí presentados se deben considerar como aceptables y coherentes con lo esperado. En todas las ocasiones se detecta carga viral y, por tanto, no se detectan resultados falsamente negativos. Por otro lado, se han detectado posibles errores de transcripción de los datos en la *web* o del etiquetado de los estándares (error fase postanalítica o fase preanalítica).

La mayor parte de los participantes incluye 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.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Bevington PR, Robinson DK. Data reduction and error analysis for the physical sciences. 3rd ed. Boston: McGraw-Hill; 2003.
- 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
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 2010. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29 Supl 5:8-14.
- Documentos CCS [consultado 12-2016]. Disponible en: <http://www.seimc.org/controldecalidadseimc>
- 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.
- 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.
- 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.
- Niesters HGM. QCMD 2005 hepatitis C virus (HCVRNA05) proficiency programme. Final report. Glasgow: Quality Control for Molecular Diagnostics; 2005. Disponible en: www.qcmd.org
- 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 Sanita.* 2003;39:183-7.