

En este control se remitió a los distintos laboratorios participantes una muestra de un suero que había sido analizado y valorado para la detección de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C (VHC) por un centro de referencia con experiencia en el diagnóstico serológico, y cuyos resultados fueron los siguientes:

- Anticuerpos frente a VHC mediante MEIA (AxSYM Abbott): Positivo
- Anticuerpos frente a VHC mediante inmunoensayo en bandas, (LIA, Innogenetics): Positivo, con detección de las siguientes bandas: C1, C2, E2, NS3, NS4.
- Detección cualitativa del RNA del VHC mediante PCR (Roche): Positiva

Se requería a cada laboratorio participante que especificara: a) método y marca comercial con que llevó a cabo las pruebas; b) expresión de los resultados en forma cuantitativa (Título, UI/ml, etc.), o las bandas detectadas en las pruebas de confirmación; c) interpretación de los resultados obtenidos (Positivo, Negativo, etc.).

La historia clínica correspondía a un varón de 45 años de edad, ex-fumador, diabético en tratamiento con antidiabéticos orales, que fue remitido al digestólogo por detectar una moderada elevación de las transaminasas séricas en un control de empresa, solicitándose entonces la detección de los marcadores de los virus de la hepatitis A y B, que en ese momento fueron negativos.

En la exploración se observaban arañas vasculares en el tórax, lesiones de rascado en los miembros inferiores y hepatomegalia de tres dedos. El paciente no refería antecedentes de adicción a drogas por vía parenteral ni de transfusiones previas. El único dato de interés era una intervención quirúrgica para la extracción del tercer molar cuando realizaba el servicio militar. Se remitió una muestra de suero solicitando la detección de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C (VHC), así como sugerencias con respecto a la actitud a tomar con el paciente según los resultados obtenidos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS

Se enviaron un total de 280 muestras de suero a los diferentes laboratorios, de los que 232 (82,9%) remitieron hoja de respuesta. De ellas, 11 (4,7%) no contenían resultados valorables e informaban que las determinaciones serológicas solicitadas no se realizaban en su laboratorio, apuntando algunos de ellos que eran realizadas en otros servicios, como los de Análisis Clínicos o Bioquímica Clínica.

Cribado de anticuerpos frente al VHC

La prueba de cribado fue realizada por los 221 centros que enviaron hojas de respuesta con resultados valorables. De ellos, 217 laboratorios (98,2%) informaron la prueba de cribado como positiva, dos centros (0,9%) como negativa y otros dos (0,9%) no informaron ningún resultado (Figura 1). Cabe señalar que, de estos dos últimos laboratorios, uno de ellos no aporta la interpretación, aunque sí informa del valor instrumental.

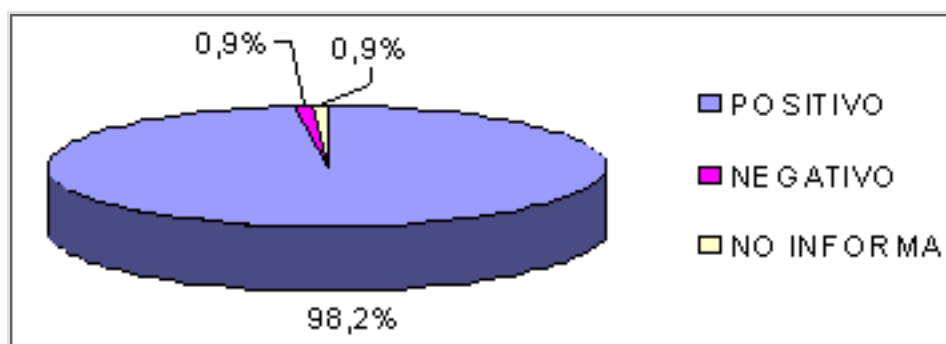


Figura 1. Distribución de los resultados de las pruebas de cribado de anticuerpos anti-VHC.

En la Tabla 1 podemos observar la distribución de los resultados según el método empleado, destacando la utilización mayoritaria de las técnicas de enzoinmunoensayo, fundamentalmente MEIA, en un 71,9% de los casos.

Tabla 1. Prueba de cribado: resultados según método empleado.

Método	Positivo	Negativo	No informa	Total (Nº y %)
MEIA	158	1	-	159 71,9

EIA	34	1	1	36	16,3
IQL ^b	14	-	-	14	6,3
IC ^a	6	-	1	7	3,2
TRIF ^c	3	-	-	3	1,4
ELFA	1	-	-	1	0,4
No consta	1	-	-	1	0,4
Total	217	2	2	221	100,0

^aIC: inmunocromatografía; IQL: inmunoquimioluminiscencia; TRIF: prueba rápida de inmunofiltración

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de cribado según la marca comercial empleada. De los 221 laboratorios que aportan resultados, sólo 9 (4,1%) no informan de cuál es el equipo comercial que emplean. Se observa un gran espectro de marcas diferentes aunque, como cabría esperar del análisis de métodos, la más frecuente es Abbott: Axsym (40,7%), sin especificar equipo (27,6%), IMX (3,2%). En la categoría denominada "Otros", se engloban distintas marcas comerciales utilizadas por un solo participante (Bayer, Biogen, bioMérieux, BioRad y Ritelab).

Los dos resultados negativos corresponden a dos marcas distintas que son empleadas únicamente por dos laboratorios. De los dos en los que no se informa la interpretación cualitativa de la prueba, uno utiliza Abbott (sin especificar) como equipo comercial y el otro no hace constar la marca. En cuanto a la información sobre los valores cuantitativos obtenidos por el método y el equipo comercial más empleado (enzimoensayo de micropartículas, Axsym Abbott), se ha observado un amplio intervalo de cifras que oscilaban entre 16,3 y 58,0, lo que hace que el valor medio sea de 39,4.

Tabla 2. Resultados de la prueba de cribado según marca comercial.

Marca	Positivo	Negativo	No informa	Total (Nº y %)	
Axsym Abbott	90	–	–	90	40,7
Abbott sin especificar	60	–	1	61	27,6
Cobas Roche	12	–	–	12	5,4
Access	8	–	–	8	3,6
Ortho	8	–	–	8	3,6
IMX Abbott	7	–	–	7	3,2
Sanofi Pasteur	5	–	–	5	2,3
Innogenetics	4	–	–	4	1,8
Organics	4	–	–	4	1,8
Gernon	3	–	–	3	1,4
Bioclinic	3	–	–	3	1,4
Analtec	–	1	–	1	0,4
Spinreact	–	1	–	1	0,4
Otros	5	–	–	5	2,3
No informa	8	–	1	9	4,1
Total	217	2	2	221	100,0

En resumen, cabe destacar la alta sensibilidad de los equipos comerciales empleados de forma mayoritaria, algo lógico porque la muestra contenía un elevado título de anticuerpos.

Análisis de los resultados de las pruebas de confirmación

De los 217 centros que obtuvieron un resultado positivo en la prueba de cribado, tan solo 114 (52.5%) realizaron una prueba de confirmación. En 72 laboratorios (63,2%) utilizaron un ensayo con proteínas recombinantes fijadas a una membrana de nitrocelulosa (LIA), y en 11 (9,6%), una técnica de *western-blot*, siendo de destacar la gran aceptación del método LIA. Por otra parte, cabe reseñar que algunos laboratorios emplearon un segundo método de ELISA (MEIA, EIA, ICMA) como confirmación del resultado previo, con resultados coincidentes con el primer ELISA realizado (Tablas 3 y 4).

Tabla 3. Prueba de confirmación: resultados según método.

Método	Positivo	Negativo	No informa	Total (Nº y %)	
LIA	72	-	-	72	63,2

<i>Western-blot</i>	11	-	-	11	9,6
EIA	10	-	-	10	8,8
<i>Inmunoblot</i>	9	-	-	9	7,9
RIBA	6	-	1	7	6,1
ICMA	2	-	-	2	1,7
MEIA	1	-	-	1	0,9
No consta	1	-	1	2	1,7
Total	112	-	2	114	100,0

Tabla 4. Marcas comerciales utilizadas para la confirmación.

Equipo	Positivo	Negativo	No informa	Total (N° y %)	
Innogenetics	64	-	-	64	56,1
Matrix Abbott	11	-	-	11	9,6
Delilab Pasteur	8	-	-	8	7,0
Bayer	4	-	-	4	3,5
Cobas Roche	4	-	-	4	3,5
Otros	11	-	-	11	9,6
No consta	10	-	2	12	10,5
Total	112	-	2	114	100,0

Es importante destacar la amplia variabilidad en cuanto a las bandas informadas por los 55 laboratorios que confirman y comunican dichas bandas (Tabla 5). El patrón más frecuente es el informado en 12 ocasiones (22,6%), que coincide con el aportado por el centro que actuó como referencia.

Tabla 5. Patrones de bandas obtenidos en el ensayo confirmatorio.

Bandas	Total (N° y %)	
"Cuatro bandas"	3	5,4
C, NS1, NS3	1	1,8
C, NS1, NS3, NS4	2	3,6
C, NS3, NS4	5	9,1
C, NS3, NS4, NS5	5	9,1
C1,2,3,4, NS1, NS3, NS4	1	1,8
C1, C2, NS3, NS4, NS5	1	1,8
C1, C2, NS1, NS3, NS4	5	9,1
C1, C2, E2, NS3	1	1,8
C1, C2, E2, NS3, NS4	12	21,8
C1, C2, E2, NS3, NS4, NS5	4	7,3
C1, C2, E2, NS4	1	1,8
C1, C2, NS1, NS3, NS4, NS5	3	5,4
C1, C2, NS2, NS3	1	1,8
C1, C2, NS3, NS4	4	7,3
C100, 33,22	3	5,4
C1,2,3,4, E2, NS1, NS3, NS4	1	1,8
C1,2,3,4, E2, NS3, NS4	1	1,8
C1,2,3,4, NS1, NS3, NS4, NS5	1	1,8
Total	55	100,0

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LAS TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

DetECCIÓN CUALITATIVA POR PCR

De los 217 laboratorios que obtuvieron un resultado positivo en la prueba de cribado, 22 (10,1%) realizaron la detección cualitativa del RNA del VHC mediante PCR. De ellos, 15 llevaron a cabo también una prueba de confirmación, por lo que sólo siete utilizaron la detección cualitativa del RNA como método confirmatorio. Cabe señalar el uso mayoritario de los sistemas de Cobas Roche, como se muestra en la tabla 6. Es probable que los tres centros que informaron de la utilización del equipo de Roche, sin especificar más, realicen la determinación con el aparato Cobas-Amplicor, pero se contabilizan aparte por fidelidad a los datos aportados por los participantes. A señalar que el único participante que informa negativa la prueba no hace constar la marca utilizada. No es posible saber si los laboratorios que no informan de la marca olvidan aportar este dato o utilizan procedimientos propios, no comerciales.

Tabla 6. PCR cualitativa: resultados según marca comercial.

Marca comercial	Positiva	Negativa	No informa	Total
Cobas Roche	10	-	-	10
Pharmagen	3	-	-	3
Roche	3	-	-	3
No consta	4	1	1	6
Total	20	1	1	22

DETECCIÓN CUANTITATIVA POR PCR.

Han sido cuatro los laboratorios que realizaron una determinación de la carga viral por PCR de la marca Cobas® Roche. En todos los casos se había llevado a cabo previamente una prueba de cribado (MEIA de AxSYM Abbott) y de confirmación (LIA de Innogenetics), que habían sido positivas. Los valores de la carga oscilaron entre 90.000 UI/ml y 402.000 UI/ml, obteniéndose un valor medio de 234.000 UI/ml.

Como dato a destacar, uno de los centros informa de la cuantificación de la carga vírica del VHC mediante el método bDNA de Bayer, aunque el resultado que da es una interpretación cualitativa (Positivo). Este laboratorio había realizado tanto la prueba de cribado como la PCR cualitativa y el genotipado del virus.

Estudio del genotipo.

Del total de centros que nos remitieron sus resultados, en cuatro han genotipado el virus, informando de que se trataba de un genotipo 1b. Tres de ellos usan el método InnoLipa® de Innogenetics y uno no aporta este dato.

COMENTARIOS Y UTILIZACIÓN DE LABORATORIO DE REFERENCIA

Han realizado comentarios 106 de los 221 centros que aportan resultados, lo que supone un índice más elevado que en otros controles de Serología. En 36 casos afirman que sería recomendable conocer la carga viral para poder instaurar el tratamiento y realizar así un seguimiento adecuado. En 13 ocasiones se comenta que sería necesario conocer el genotipo. Cinco centros hacen mención expresa a que no realizan prueba de confirmación. Las razones que argumentan para no llevar a cabo dicha confirmación fueron, en cuatro ocasiones, porque los valores de absorbancia del EIA son muy elevados y el restante porque hace dos pruebas distintas de EIA y resultan ambas positivas.

En cuanto a los comentarios clínicos, en 17 casos sugieren que sería necesario un seguimiento evolutivo de la enfermedad y en siete recomiendan iniciar el tratamiento con interferón y ribavirina. Cuatro participantes sugieren que el paciente tiene una infección activa (¿aguda?) por el virus de la hepatitis C y ocho, una hepatitis crónica. Sólo un centro comenta que se debería hacer el diagnóstico diferencial con otras hepatopatías.

Es digno de mención que, en 11 centros, no se realizan las pruebas de detección de anticuerpos frente al VHC en los laboratorios de Microbiología. También hay que destacar que 13 participantes recomiendan la confirmación de los resultados positivos, aunque no la hacen en sus propios centros, sugiriendo su envío a un centro de referencia.

Por lo que se refiere a la utilización de un laboratorio externo, hay 12 participantes que no consignan expresamente este dato, 13 que dicen que sí lo han requerido y 19 que lo han utilizado parcialmente. Asumiendo que éstos últimos utilizaron el laboratorio externo para llevar a cabo las pruebas de confirmación (algunos lo mencionan explícitamente), y prescindiendo de los 12 que no informan si lo utilizaron o no, se puede concluir que el 94,1% de los participantes (207 de 220) fueron autosuficientes para hacer

el cribado de los anticuerpos frente al VHC, y que el 85,5% (188 de 220) fueron capaces de detectar anticuerpos y confirmar su presencia.