

CONTROL DE CALIDAD DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR (BM-1/02)

En el presente control se envió a los distintos laboratorios participantes una muestra de plasma obtenida de una única extracción. Fue informada por el laboratorio de referencia como positiva para la detección cualitativa de genoma del VHC, y perteneciente al genotipo 1b. Se acompañaba de una historia clínica que correspondía a un paciente varón de 35 años de edad, que había presentado un cuadro de infección hepática aguda hacía un año, diagnosticado mediante serología. No era adicto a las drogas por vía parenteral y sólo existía el antecedente de una intervención quirúrgica por fisura anal dos meses antes de presentar dicho cuadro. Estaba vacunado frente a la hepatitis B y no se pudo demostrar la relación con la intervención quirúrgica por no disponer de una muestra de suero previa. Desde entonces mantenía elevada la cifra de transaminasas por lo que el hepatólogo consideró la posibilidad de instaurar un tratamiento con interferón pegilado y ribavirina. Para poder controlar la evolución posterior se remitió plasma al laboratorio de Microbiología para la detección cualitativa del genoma del VHC y para el genotipado del este virus. Se solicitó a los participantes que realizaran dichas determinaciones, así como la formulación de los comentarios que considerasen oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE GENOMA DEL VHC Y DEL GENOTIPADO

El plasma problema fue enviado a 68 laboratorios de los cuales 54 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 79,4%. En todas las ocasiones, excepto en dos casos, se realizó alguna de las dos determinaciones solicitadas. Como se puede observar en la tabla 1, de los 54 centros que enviaron hoja de respuesta, 52 (96,3%) realizaron la detección cualitativa del genoma de VHC y la informan todos ellos como positiva; los otros dos centros comentan que no realizan dicha prueba. El genotipado no se llevó a cabo en 8 laboratorios (14,8%), informándose en los 46 centros restantes. Uno de éstos realiza dos técnicas de genotipado diferentes, por lo que el número de pruebas realizadas es de 47. Del total, 46 (97,9%) informan de un genotipo 1b, coincidiendo con el laboratorio de referencia. Sólo un participante no obtiene bandas en la tira de nitrocelulosa al realizar la técnica (2,1%) y debido a esto no interpreta el resultado obtenido.

Tabla 1. Resultados de la detección cualitativa de genoma del VHC y genotipado.

| Prueba | Total participantes | Total pruebas | Interpretación (%) | | |
|-----------------------|---------------------|---------------|--------------------|----------|---------------|
| | | | Positiva | Negativa | No interpreta |
| Detección cualitativa | 54 | 52 | 52 (96,3) | 0 (0,0) | 0 (0,0) |
| Genotipado | 54 | 47 | 46 (85,2) | 0 (0,0) | 1 (1,8) |

En los métodos y marcas utilizados para cada una de las dos pruebas solicitadas se observa que, en el caso de la detección cualitativa del genoma, el 100,0% de los participantes obtuvo un resultado positivo, siendo las técnicas comerciales utilizadas con mayor frecuencia (92,3%) que las técnicas de desarrollo propio (7,7%). Se solicitó a los participantes únicamente la detección cualitativa, aunque 18 de ellos (34,6%) realizaron la prueba cuantitativa (carga viral), siempre con detección positiva. En todas las ocasiones en que se realizó una PCR comercial fue de la marca Roche (COBAS-AMPLICOR®). Los datos se exponen en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos y marcas utilizados en la detección del genoma del VHC.

| Método | Marca | Negativa | Positiva | Total |
|------------------|-------------------------|----------|----------|-------|
| PCR cualitativa | Desarrollo propio | 0 | 4 | 4 |
| | COBAS-AMPLICOR® (Roche) | 0 | 30 | 30 |
| PCR cuantitativa | COBAS-AMPLICOR® (Roche) | 0 | 18 | 18 |
| Total | | 0 | 52 | 52 |

Tabla 3. Métodos y marcas utilizados en la realización del genotipado del VHC.

| Método | Marca | Interpretación (%) | | Total (%) |
|------------------------|-------------------------|--------------------|---------------|------------|
| | | Genotipo 1b | No interpreta | |
| Hibridación | Bayer INNO-LiPA® | 35 (74,5) | 1 (2,1) | 36 (76,6) |
| | Desarrollo propio | 1 (2,1) | 0 (0,0) | 1 (2,1) |
| | No informa | 1 (2,1) | 0 (0,0) | 1 (2,1) |
| PCR | Roche COBAS-AMPLICOR® | 1 (2,1) | 0 (0,0) | 1 (2,1) |
| Restricción enzimática | No informa ^a | 2 (4,2) | 0 (0,0) | 2 (4,2) |
| Secuenciación | Desarrollo propio | 1 (2,1) | 0 (0,0) | 1 (2,1) |
| | Visible Genetics | 3 (6,4) | 0 (0,0) | 3 (6,4) |
| No informa | No informa | 2 (4,2) | 0 (0,0) | 2 (4,2) |
| Total | | 46 (97,9) | 1 (2,1) | 47 (100,0) |

^aPresumiblemente de desarrollo propio.

Como se aprecia en la tabla 3, 46 de los 47 participantes informan de la detección del genotipo 1b, y sólo uno no es capaz de determinarlo al no obtener bandas en la tira de nitrocelulosa del sistema INNO-LiPA® (Bayer). Puesto que este participante es capaz de detectar el genoma, hay que atribuir la ausencia de bandas a un fallo puntual de la técnica, bien en la fase de amplificación o en la de hibridación inversa. Por otro lado, un participante comenta haber utilizado el sistema COBAS-AMPLICOR® (Roche) para la detección del genotipo. Debe tratarse de un error, ya que este sistema se utiliza únicamente para la detección genómica. Dos participantes informan restricción enzimática, presumiblemente a través de un método de desarrollo propio. Por último, dos de los participantes que comentan adecuadamente el genotipo no informan sobre la marca ni el método utilizado.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES Y CARACTERÍSTICA ESPECIAL

En el presente control, se analizaron 12 hojas de respuesta de participantes que efectuaban algún tipo de comentario, dos de ellas con dos, por lo que el número total de comentarios fue de 14. Como siempre, algunos fueron muy extensos, lo que obligó a sintetizarlos por parte del Programa de Control de Calidad SEIMC tratando de no desvirtuar la idea que pretendían transmitir. En la tabla 4 se resumen los comentarios microbiológicos efectuados por los participantes.

Tabla 4. Comentarios de los participantes

| Comentario | Número | % ^a |
|--|--------|----------------|
| No realizamos en nuestro laboratorio ninguna de las pruebas solicitadas | 1 | 7,1 |
| No realizamos genotipado en nuestro laboratorio | 2 | 14,3 |
| Las pruebas solicitadas las realiza la unidad de hormonas | 1 | 7,1 |
| No se obtienen bandas al realizar el genotipado | 1 | 7,1 |
| Transmisión en quirófano o colonoscopia | 1 | 7,1 |
| Aconsejamos la realización de carga viral para el inicio del tratamiento | 7 | 50,0 |
| Si carga <800.000 tratamiento 6 meses; si >800.000, durante 12 meses | 1 | 7,1 |
| Total comentarios | 14 | 100,0 |

^aSobre el total con comentarios

El 50% de los comentarios coinciden en la necesidad de realizar la carga viral antes del inicio del tratamiento aunque posteriormente, para la monitorización de éste, se utilice la PCR cualitativa. Un participante condiciona el tiempo de prolongación de la terapia dependiendo si la carga viral es superior o inferior a un valor preestablecido (800.000 UI/ml). Dos de los laboratorios no realizaban las técnicas solicitadas ni tampoco las enviaron a su laboratorio de referencia, por lo que no informaron nada. Uno de ellos además informa que dichas determinaciones no se realizan en el laboratorio de Microbiología sino en la Unidad de Hormonas de su hospital, lo que es una muestra más de los peligros de la automatización en Microbiología y el concepto de laboratorio global, distribuido por métodos. Por último, un participante piensa que al paciente se le transmitió la infección durante el acto quirúrgico o durante la realización de una colonoscopia.

En cuanto a la detección de la característica especial, 45 (83,3%) informan que se correspondía con el genotipo 1b del VHC, informándola adecuadamente, mientras que 9 (16,7%) no la informaron.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la detección del genoma o para el genotipado, obtenemos los siguientes datos: 48 laboratorios (88,9%) dicen no utilizarlo, tres (5,5%) no lo informan y otros tres (5,5%) afirman haberlo utilizado, lo que representa unos datos de autosuficiencia importantes en cuanto al área de Microbiología Molecular. No obstante, hay que asumir que buena parte de los participantes que, estando inscritos en el control, no remitieron resultados, probablemente no disponían de esta capacidad en su laboratorio.