

CONTROL DE CALIDAD DE BIOLOGÍA MOLECULAR (BM-1/03)

En el presente control se envió a los participantes un tubo con suero en el que el laboratorio de referencia detectó la presencia del DNA virus de la hepatitis B (VHB) de forma cualitativa. La muestra se acompañaba de una historia clínica que correspondía a un paciente varón de 30 años de edad, con antecedentes de adicción a drogas por vía parenteral y cuyo consumo negaba desde hacía ocho años. Tenía anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), pero no seguía tratamiento porque sus niveles de células CD4+ eran elevados. Durante su época de adicción presentó un cuadro clínico de hepatitis B aguda que posteriormente evolucionó a hepatitis crónica con marcadores serológicos de replicación activa. En el último control se observó un ligero aumento de las transaminasas y se le planteó el inicio del tratamiento frente al VHB, para lo que fue necesario conocer su situación actual con respecto al VHB. Se solicitó a los participantes que procesaran el suero y realizaran la detección cualitativa del DNA del VHB, así como la formulación de los comentarios que considerasen oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE DNA VHB

El suero problema fue enviado a 69 laboratorios de los cuales 46 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 66,7%, inferior al de otros controles. Se aceptaron como válidas para el análisis de los resultados las respuestas que realizaron la detección cualitativa o cuantitativa del VHB. El número de resultados analizados fue de 43 (91,5%), ya que cuatro laboratorios no realizaron dichas pruebas, tres de ellos por no disponer de la técnica y uno por no realizar técnicas de biología molecular (lo que sorprende al estar inscrito en este control); por el contrario, un laboratorio llevó a cabo dos detecciones (cualitativa y cuantitativa). De estos 43 análisis, 39 fueron positivos, mientras que en los restantes casos no se detectó el genoma del VHB (tabla 1). En el caso de los laboratorios que realizaron la detección cuantitativa, la mayoría informó del número de copias de DNA del VHB, aunque este aspecto no se analiza en el presente control, ya que la muestra había sido liofilizada y, por lo tanto, existía variación de un vial a otro en el número de copias.

Tabla 1. Resultados de la detección de DNA del VHB.

Detección DNA de VHB	Número	Porcentaje sobre	
		Técnicas	Participantes
Positiva	39	90,7	90,4
Negativa	4	9,3	9,6
Total	43	100,0	100,0

La PCR fue el método más usado y, dentro de este grupo, una técnica de PCR anidada (Cobas-Amplicor, Roche), informada por el 60,5%. Le sigue en frecuencia un método de desarrollo propio (16,3%). Como método cualitativo los participantes utilizaron la hibridación, siendo el segundo método más frecuente (7 participantes) e informándose las marcas: Bayer (4,6%), DiaSorin (4,6%) y Digene (7,0%). Por último, en una ocasión se realizó una PCR en tiempo real de Roche (2,3%). El resto de los resultados se especifican en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos y marcas utilizados en la detección del VHB

Método	Marca	Número	%
Hibridación	b-DNA, Bayer	2	4,6
	DiaSorin	2	4,6
	Digene	3	7,0
PCR	Desarrollo propio	7	16,3
	Cobas-Amplicor	26	60,5
	Need	1	2,3
	No informada	1	2,3
PCR en tiempo real	Roche	1	2,3
Total		43	100,0

Por lo que respecta a los laboratorios que obtuvieron resultados negativos, en dos ocasiones utilizaron la PCR anidada Roche Cobas-Amplicor, en otra una hibridación de Digene y en la otra una de DiaSorin.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control se analizaron sólo 14 hojas de respuesta de participantes que efectuaban algún tipo de comentario, en una ocasión dos, por lo que el número total de comentarios fue de 15. En general, no fueron muy extensos pero hubo que sintetizar alguno por parte del Programa de Control de Calidad. Se han agrupado en la tabla 3. El comentario más frecuente realizado por los participantes se refiere al tipo de técnica de detección del DNA del VHB; la mayoría de los laboratorios no realizan la detección cualitativa que era lo que se solicitaba, sino la cuantitativa ya que

según afirman algunos participantes, ésta es más sensible. En varias ocasiones los comentarios se refieren a la ampliación de los marcadores de hepatitis B o de otras infecciones relacionadas con el antecedente personal de drogadicción, existiendo varias posibilidades que se detallan en la tabla 3. En una ocasión un participante confirma la hepatitis crónica activa por VHB tras realizar dichos marcadores serológicos en la muestra remitida. Por último, un participante comenta que el tratamiento del paciente se debe realizar con interferón α o con lamivudina y otro que una vez instaurado se debe hacer un seguimiento a los tres meses mediante una PCR cuantitativa.

Tabla 3. Comentarios microbiológicos realizados por los participantes.

Comentario	Número	%^a
Sólo realizamos detección cuantitativa y no cualitativa	3	20,0
La PCR cuantitativa es más sensible que la cualitativa	2	13,3
Hibridación en el límite bajo y PCR <i>in house</i> positiva	1	6,7
Marcadores HBsAg y HBeAg negativos	1	6,7
Marcadores HBsAg y HBeAg positivos con IgM VHB negativa	1	6,7
Infección crónica activa VHB confirmada	2	13,3
Descartar VHC, VIH y superinfección por VHD al ser ex ADVP	2	13,3
Antes del tratamiento hacer HBeAg, anti-HBe y cuantificar DNA	1	6,7
Tratamiento y seguimiento de la PCR a los 3 meses	1	6,7
Tratamiento con interferón α o lamivudina	1	6,7
Total comentarios	15	107,1

^aSobre las 14 hojas con comentarios.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la detección del DNA del VHB, por parte de los laboratorios que informaron algún resultado (42), obtenemos los siguientes datos: 32 (76,2%) dicen no utilizarlo, ocho lo hacen (19,0%) y dos (4,8%) no ofrecen información acerca de este dato.