

CONTROL DE CALIDAD DE SEROLOGÍA (S-1/03)

En el presente control se remitió a los distintos laboratorios participantes una muestra de suero liofilizado que había sido analizado y valorado para la detección de anticuerpos frente al virus de la hepatitis B (VHB) y 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 al VHC mediante MEIA: **Positivo (Axsym® Abbott); Negativo (Innogenetics).**
- Anticuerpos frente al VHC mediante inmunoensayo en bandas: **Positivo, con detección de las siguientes bandas: C1, C2, NS3, NS4, (Inno-LiA®, Innogenetics).**
- Detección de RNA del VHC por PCR : **Positivo (Amplicor® Roche)**
- Antígeno de superficie del VHB mediante MEIA: **Negativo (Axsym® Abbott; Diasorin).**

La muestra de suero, pertenecía a una mujer de 55 años de edad que presentaba un cuadro de endometriosis que requería intervención quirúrgica. La paciente no refería ningún antecedente patológico de interés y se procedió a realizar las pruebas analíticas y exploraciones complementarias habituales en la evaluación preoperatoria. Los resultados del estudio mostraban un discreto aumento de las transaminasas, de la bilirrubina y un índice de Quick del 80%, con normalidad del resto de los parámetros sanguíneos. Ante la sospecha de una hepatitis, se consultó de nuevo a la paciente y refirió haber sido transfundida hacia 20 años en el parto de su segundo hijo. Se cursó una muestra de suero para estudio de marcadores serológicos de hepatitis B y C. De modo similar, se requería a cada laboratorio participante que llevara a cabo el estudio de dichos marcadores, y que formulase sugerencias, comentarios e interpretación de los resultados obtenidos.

El objetivo que se buscaba en este control era poner a prueba **las diferencias en sensibilidad analítica de los distintos métodos comerciales de detección de anticuerpos anti-VHC** que se utilizan en nuestro país. El laboratorio de referencia señaló que el título de anti-VHC en la muestra era bajo, lo que la hacía idónea para este propósito.

Se enviaron un total de 235 muestras de suero a los diferentes laboratorios, de los que 208 (88,5%) remitieron hoja de respuesta. De ellas, siete (3,4%) no contenían resultados valorables e informaban de que las determinaciones serológicas solicitadas no se realizaban en su laboratorio por lo que, en realidad, son 201 los centros que aportan resultados analizables, siendo el porcentaje de participación real del 85,5%.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DEL ANTÍGENO DE SUPERFICIE DEL VHB

La detección del antígeno de superficie del VHB (HBsAg) fue realizada por los 201 centros (100%) que enviaron registros con resultados valorables. De esos 201 laboratorios, cinco participantes llevan a cabo dos determinaciones de este marcador, por lo que en realidad se valoran 206 determinaciones del HBsAg. Como se observa en la figura 1, la mayoría fueron negativas (94,2%), coincidiendo con el laboratorio de referencia. Un total de siete participantes dicen que este marcador es positivo, aunque tres declaran que esta positividad es débil. Los cinco laboratorios restantes obtuvieron un resultado que informaron como indeterminado.

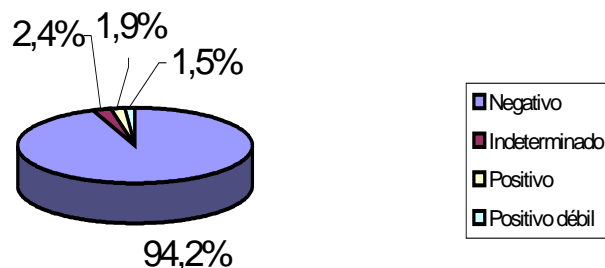


Figura 1. Distribución de los resultados de detección de HBsAg.

En cuanto a los métodos empleados, cabe destacar la utilización mayoritaria de las pruebas de enzimoimmunoensayo, fundamentalmente el de micropartículas (MEIA), que es usado en 109 ocasiones (52,9%), seguido del enzimoimmunoensayo en formato convencional (EIA), empleado 54 veces (26,2%). Le siguen en tercer y cuarto lugar respectivamente, las técnicas de inmunoquimioluminiscencia (9,3%) y enzimoimmunoensayo fluorescente (8,7%). Como se puede observar en la tabla 1, no existe una distribución específica que nos permita obtener conclusiones acerca de la relación entre método empleado y resultado no coincidente con el aportado por el laboratorio de referencia, ya que el número de valores positivos o indeterminados no es estadísticamente significativo.

De los cinco centros que realizan dos determinaciones del HBsAg, cuatro participantes llevan a cabo la primera prueba mediante un método MEIA (Axsym® Abbott) con resultado positivo débil según dos de ellos y negativo para los otros dos. La segunda detección del HBsAg es realizada por estos cuatro participantes con una técnica fluorescente (ELFA de Vidas® bioMérieux) con resultado negativo en todos los casos. Los dos centros que obtuvieron mediante la

primera técnica un positivo débil, lo interpretan como un falso positivo siendo el resultado definitivo negativo. Finalmente, hay un participante que obtiene también dos resultados negativos por dos métodos distintos, un EIA de DiaSorin y una inmunocromatografía de Innogenetics.

Tabla 1. Detección del HBsAg: resultados según método empleado.

Método	Positivo	Positivo débil	Negativo	Indeterminado	Total	
					Nº	%
MEIA	3	2	101	3	109	52,9
EIA	1	1	51	1	54	26,2
IQL ^a	–	–	18	1	19	9,3
ELFA ^b	–	–	18	–	18	8,7
ECLIA ^c	–	–	4	–	4	1,9
IC ^d	–	–	1	–	1	0,5
No consta	–	–	1	–	1	0,5
Total	4	3	194	5	206	100,0

IQL^a: Inmunoquimioluminiscencia; ELFA^b: Enzimoimmunoensayo fluorescente; ECLIA^c: Inmunoensayo electroquimioluminiscente; IC^d: Inmuno cromatografía.

En la tabla 2, se muestran los datos obtenidos según la marca comercial empleada. A pesar de la amplia variedad de equipos comerciales, destaca la utilización mayoritaria, como cabría esperar del análisis de métodos, del equipo AxSYM® de Abbott con un porcentaje del 38,3%, seguido de esta misma comercial pero sin especificar equipo con un 17,0% y por Vidas® (bioMérieux) con un 8,7%. Los sistemas Cobas-Core® de Roche y Architect® (Abbott) son usados en porcentajes del 8,3% y 4,9% respectivamente.

Como ya se ha comentado anteriormente en el análisis de métodos, no se pueden obtener conclusiones acerca de la mayor fiabilidad de uno u otro equipo comercial, pues la distribución y cuantía de los resultados no coincidentes con el laboratorio de referencia, no son significativas.

Tabla 2. Detección del HBsAg: detección según marca comercial utilizada.

Marca	Positivo	Positivo débil	Negativo	Indeterm.	Total	
					Nº	%
AxSYM® Abbott	1	2	74	2	79	38,3
Abbott sin especificar	2	–	32	1	35	17,0
Vidas® (bioMérieux)	–	–	18	–	18	8,7
Cobas Core® (Roche)	–	–	17	–	17	8,3
Architect® (Abbott)	–	–	10	–	10	4,9
DiaSorin	1	–	8	–	9	4,4
Elecsys® (Roche)	–	–	9	–	9	4,4
Vitros® (Ortho)	–	1	5	1	7	3,4
IMX® Abbott	–	–	6	–	6	2,9
Access® (Biorad)	–	–	4	–	4	1,9
Dade-Behring	–	–	4	–	4	1,9
Otros	–	–	4	1	5	2,4
No informa	–	–	3	–	3	1,5
Total	4	3	194	5	206	100,0

OTROS MARCADORES DEL VHB

Aunque no se solicitaba, hubo cinco participantes que llevaron a cabo la determinación de anticuerpos anti-HBs. Cuatro de ellos aportan un resultado negativo. El otro participante detecta anticuerpos mediante el equipo Cobas-Core® de Roche

La detección de anticuerpos totales frente al antígeno del core es realizada por 16 participantes, obteniendo todos ellos un resultado negativo coincidente con el del laboratorio de referencia. Los equipos comerciales más utilizados fueron Cobas-Core® de Roche (seis participantes) y AxSYM® de Abbott. Dos laboratorios realizaron la determinación de anticuerpos de la clase IgG y otros dos de la clase IgM frente a este antígeno, todos ellos con resultado negativo.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VHC

Cribado de anticuerpos frente al VHC

La prueba de cribado fue realizada por 197 centros (98,0%) de los 201 que enviaron hoja de respuesta con resultados valorables. De esos 197 laboratorios, 23 llevan a cabo dos pruebas de cribado para la detección de anticuerpos frente al VHC, por lo que se realizan en realidad 220 determinaciones. Como puede observarse en la figura 2, son 174 (79,1%) las pruebas que dan un resultado positivo coincidente con el del laboratorio de referencia, de las cuales 71 (32,3%) son, de acuerdo con los informes remitidos, positivo débil. Finalmente, 32 (14,5%) determinaciones resultan negativas y 14 (6,4%) dan un resultado indeterminado.

Aunque, a simple vista, la variabilidad de los resultados pueda parecer sorprendente, en realidad no lo es tanto, e ilustra perfectamente el objetivo que se perseguía para este control. Como se ha dicho antes, se buscó una muestra con un bajo título de anticuerpos anti-VHC para demostrar las diferencias de sensibilidad entre las diferentes técnicas, e incluso entre distintos laboratorios que utilizan un determinado sistema comercial.

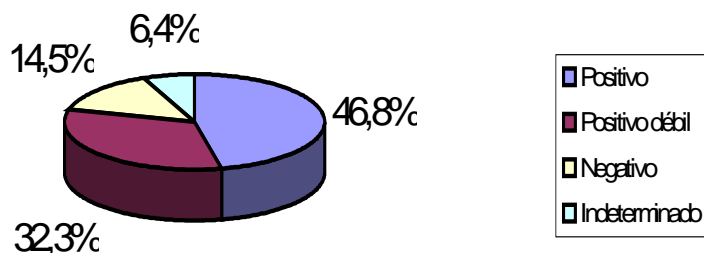


Figura 2. Distribución de resultados de cribado frente al VHC

En cuanto a los métodos empleados, cabe destacar la utilización mayoritaria de las pruebas de EIA, fundamentalmente el método MEIA, que es empleado en 115 ocasiones (52,2%) y en segundo lugar el EIA sin especificar, utilizado 76 veces (34,5%). Como se puede observar en la tabla 4, la distribución por métodos de los resultados no coincidentes con el del laboratorio de referencia es bastante heterogénea, aunque llama la atención, que un porcentaje considerable aportado por los laboratorios que emplearon el EIA sin especificar, como método de detección informen de un resultado negativo o indeterminado (tabla 3). En cuanto a los 23 centros que realizan una segunda prueba de cribado, 10 de ellos obtienen un resultado positivo, coincidente con la primera técnica, 8 centros obtienen un resultado positivo y otro negativo, tres participantes un resultado indeterminado y seguidamente positivo, uno obtiene un indeterminado y un negativo y finalmente hay un centro que consigue dos negativos. De estos 23 participantes, 13 de ellos hacen también una prueba de confirmación mediante *immunoblot* y, en algún caso, PCR.

Tabla 3. Prueba de cribado VHC: resultados según método.

Método ^a	Positivo	Positivo débil	Negativo	Indeterm.	Total	
					Nº	%
MEIA	53	44	9	9	115	52,2
EIA	33	19	19	5	76	34,5
IQL	15	7	1	–	23	10,5
IC	2	–	2	–	4	1,8
ELFA	–	–	1	–	1	0,5
No consta	–	1	–	–	1	0,5
Total	103	71	32	14	220	100,0

^a:Ver abreviaturas en tabla 1.

En la tabla 4, se muestran los resultados obtenidos en la prueba de cribado según la marca comercial empleada. Destaca la utilización mayoritaria del equipo Axsym® de Abbott con un porcentaje del 37,7%, seguido de la marca Abbott pero sin especificar equipo con un 17,7%, y por Cobas-Core® (Roche) con un 9,5%. No es posible, dada la dispersión de marcas establecer una clara asociación estadística de los resultados discrepantes (negativos) con determinadas marcas comerciales, aunque sí que se observan tendencias, como es el caso de Innogenetics, en donde cinco de ocho participantes obtienen un resultado negativo (como le ocurría al laboratorio de referencia).

Tabla 4. Resultados de la prueba de cribado VHC según marca comercial.

Marca	Positivo	Positivo débil	Negativo	Indeterm.	Total	
					Nº	%
Axsym® Abbott	39	33	4	7	83	37,7
Abbott sin especificar	17	14	4	4	39	17,7
Cobas-Core® (Roche)	13	7	–	1	21	9,5
Vitros® (Ortho)	9	5	6	–	20	9,1
Architect® (Abbott)	6	4	–	–	10	4,5
Innogenetics	2	–	5	1	8	3,6
IMX® Abbott	1	1	4	–	6	2,7
Access® (BioRad)	6	–	–	–	6	2,7
Roche	3	2	–	–	5	2,3
No informa	2	3	2	–	7	3,2
Otros	5	2	7	1	15	6,8
Total	103	71	32	14	220	100,0

Pruebas de confirmación de anticuerpos anti-VHC

La prueba de confirmación es realizada por 74 laboratorios de las 174 (42,5%) determinaciones que obtienen un resultado positivo en la prueba de cribado, por cuatro centros (5,0%) que obtuvieron un resultado indeterminado en la prueba de cribado del VHC y por tres (3,8%) aportaron un resultado negativo. Como se resume en la tabla 5, no todos los laboratorios que realizan esta prueba confirmaron la presencia de anticuerpos frente a este virus. Así, son 66 (82,5%) los centros con un resultado positivo coincidente con el aportado por el laboratorio de referencia para este control, 10 (12,5%) participantes obtienen un resultado negativo y tres (3,7%) informan un resultado indeterminado. Finalmente un laboratorio (1,3%) afirma estar pendiente del resultado que le aportará su laboratorio externo de referencia. En cuanto a los métodos empleados, como puede observarse en la tabla 5, la gran mayoría de los centros emplea una técnica de *immunoblot* (95,0%); tan sólo tres participantes (3,7%) no informan acerca del método empleado, y uno (1,3%) informa haber utilizado un segundo EIA como confirmación, aunque todavía está pendiente del resultado.

Tabla 5. Resultados de la prueba de confirmación del VHC según método.

Método	Positivo	Indeterm.	Negativo	Pendiente	Total	
					Nº	%
<i>Immunoblot</i>	63	10	3	–	76	95,0
No consta	3	–	–	–	3	3,7
EIA	–	–	–	1	1	1,3
Total	66	10	3	1	80	100,0

El equipo Inno-LiA® (Innogenetics), el cual utiliza un ensayo con proteínas recombinantes fijadas a una membrana de nitrocelulosa, ha sido el más usado, siendo empleado por 58 (72,5%) de los 80 centros que realizan la prueba de confirmación, con resultados coincidentes con el centro que actuó como referencia. El resto de participantes emplea diversas marcas comerciales y cinco (6,2%) participantes no informan acerca del equipo empleado. Todos estos datos los podemos ver resumidos en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados de la prueba de confirmación del VHC según marca comercial.

Equipo	Positivo	Indeterm.	Negativo	Pendiente	Total	
					Nº	%
Inno-LiA®(Innogenetics)	57	–	1	–	58	72,5
No informa	5	–	–	–	5	6,2
Ortho Clinical Diagnostics	1	3	–	–	4	5,0
Deciscan® (BioRad)	1	3	–	–	4	5,0
BioRad	–	2	2	–	4	5,0
Bayer-Chiron	2	2	–	–	4	5,0
Innogenetics, sin especificar	–	–	–	1	1	1,3
Total	66	10	3	1	80	100,0

Es importante destacar que la variabilidad en cuanto al patrón de bandas informado por 50 laboratorios (62,5%) de los 80 centros que realizan la técnica de confirmación no es tan amplia como en otras ocasiones (tabla 7). El patrón más frecuente es el informado en 27 ocasiones que detecta las siguientes bandas: C1, C2, NS3, NS4 y que coincide con el detectado por el centro de referencia. Existen pequeñas diferencias que hacen que el patrón de bandas se modifique, lo que es debido, en parte, a las distintas marcas comerciales usadas y a la interpretación subjetiva de algunas intensidades de color.

Tabla 7. Patrones de bandas del ensayo confirmatorio.

Bandas	Número	%
C1, C2, NS3, NS4	27	54,0
C1, C2, NS3	8	16,0
C1, C2, NS3, NS4+/-	4	8,0
C1, C2	2	4,0
C1, C2+/-, NS3	2	4,0
C22, C33	2	4,0
C22p	2	4,0
C1, NS3	1	2,0
C22, C33+/-	1	2,0
C1, C2+/-, NS3, NS4+/-, NS5	1	2,0
Total	50	100,0

Detección del RNA del VHC por PCR y estudio del genotipo

Son 26 los laboratorios que realizan una detección cualitativa del RNA del VHC mediante PCR. De ellos, 15 centros (57,7%) hacen esta determinación junto a la prueba de cribado y al *immunoblot* de confirmación, mientras que 11(42,3%) participantes utilizaron la detección cualitativa del RNA como método confirmatorio del resultado obtenido con la prueba de cribado.

Cabe señalar, el uso mayoritario de los sistemas Cobas Amplicor® de Roche (trece centros). Otros ocho laboratorios indican la marca Roche sin especificar, y aunque posiblemente emplearon el mismo equipo, se contabilizan aparte por fidelidad a los datos aportados por los participantes. Finalmente, en tres ocasiones no consta información acerca del equipo empleado. En cuanto al resultado, 18 participantes (69,2%) lo informaron como positivo coincidiendo con el laboratorio de referencia, pero siete (26,9%) aportaron un resultado negativo, sin que pueda apreciarse ninguna tendencia concreta acerca de la utilización de un determinado equipo comercial.

Tabla 8. Resultados de la PCR cualitativa según marca comercial.

Marca	Positivo	Negativo	Indeter.	Total	
				Nº	%
Cobas Amplicor® (Roche)	10	2	1	13	50,0
Roche	7	1	–	8	30,8
Need	–	1	–	1	3,8
Pharmagen (Genomica)	–	1	–	1	3,8
No consta	1	2	–	3	11,6
Total	18	7	1	26	100,0

Fueron tres los laboratorios que realizaron una determinación de la carga viral del VHC mediante PCR, de los cuales dos centros emplean el equipo comercial Cobas Amplicor® de Roche, uno con resultado positivo y otro por debajo del límite de detección. Hay un tercero no informa la marca utilizada, aportando un resultado negativo. Sólo en uno de los casos, se había llevado a cabo previamente una prueba de cribado y de confirmación, que habían sido positivas (aunque la detección de la carga resultó negativa) y en los otros dos sólo se hizo prueba de cribado.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que se refiere a la utilización del laboratorio de referencia, de los 201 participantes que enviaron hoja de respuesta analizable, 160 (79,6%) señalan que no lo utilizan, 25 (12,4%) no aportan información acerca de este dato y 16 centros (8,0%) afirman que sí lo emplean, de los cuales 13 (14,5%) comentan que lo hacen parcialmente. En general, se puede concluir que la mayor parte de los laboratorios participantes disponen de los medios técnicos necesarios para realizar las dos determinaciones fundamentales de este control (determinación del antígeno de superficie del VHB y detección de anticuerpos frente al VHC), aunque es mucho menor el número de centros que cuentan con pruebas de confirmación.

COMENTARIOS

Los centros que realizaron algún tipo de comentario, haciendo referencia a distintos aspectos del control de calidad fueron 109 de los 201 laboratorios que remitieron resultados analizables (54,2%).

Cabe destacar los 22 centros que de forma explícita consideran, a la vista de los resultados obtenidos, la existencia de una infección por el VHC. Once de ellos comentan que se trata de una hepatitis por el VHC, remarcándose en tres ocasiones que se trata de una forma crónica en fase virémica. Tres centros la etiquetan de una hepatitis C postransfusional, en la que se ha de valorar el tratamiento con interferón, mientras que para los ocho restantes el origen postransfusional es una hipótesis plausible, aunque no confirmada.

Otro de los comentarios más frecuentes, realizado por 47 centros, es la necesidad de confirmar el resultado de la serología del VHC, mediante *immunoblot* según 10 participantes, o con una técnica de PCR según otros 16 centros, o mediante ambas técnicas a la vez, como afirman los 9 restantes. En todos los casos se trata de descartar la infección o un falso positivo, como comenta específicamente alguno de ellos. Además, 15 participantes señalan en sus comentarios la necesidad de realizar una detección de RNA del VHC mediante PCR, con el fin de valorar el estado de la replicación viral, seroconversión y posibilidad de tratamiento.

Finalmente cabe comentar que dos participantes llevaron a cabo la detección de anticuerpos de tipo IgM frente al VHA, con resultado negativo en ambos casos, empleando una técnica EIA de Cobas-Core® (Roche) y un método MEIA de Abbott y que un tercer laboratorio realizó la detección de anticuerpos frente al VIH1+2 mediante el equipo de Vidas Duo® (bioMérieux) con resultado negativo, aspectos que no se solicitaban ni tenían relación con el caso.