

CONTROL DE CALIDAD DE SEROLOGÍA (S-4/04)

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 a los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tipos 1 y 2 y frente al virus herpes humano tipo 8 (VHH-8) por un centro de referencia con experiencia en el diagnóstico serológico y cuyos resultados fueron los siguientes:

- **Anticuerpos de clase IgG frente al VHH-8 mediante enzoinmunoensayo (EIA):** Negativo (Biotrin).
- **Anticuerpos frente al VIH 1 y 2 mediante enzoinmunoensayo de micropartículas (MEIA):** Positivo (Axsym®, Abbott).
- **Anticuerpos frente al VIH 1 mediante *immunoblot*:** Positivo (InnoLIA®, Innogenetics).

La muestra de suero pertenecía a un varón de 42 años de edad, homosexual, seronegativo y con pareja estable desde hacía un año. El paciente relató que, a pesar de las numerosas parejas que había tenido en el pasado, no se había repetido la pruebas serológicas de anticuerpos frente al VIH desde hacía siete años. Acudió a la consulta de dermatología, remitido por su médico de cabecera, por presentar unas lesiones en miembro inferior izquierdo compatibles con sarcoma de Kaposi, por lo que, además de obtener una biopsia de la lesión para estudio anatómo-patológico, se remitió una parte de ella a un laboratorio de referencia para realizar PCR de VHH-8. Además, se envió una muestra de sangre para conocer el estado serológico actual tanto frente al VIH como frente al VHH-8. Estas fueron las determinaciones solicitadas a los participantes, en la medida de que fuesen capaces de realizarlas. También se les solicitó que formularan **sugerencias, comentarios e interpretación** de los resultados obtenidos.

Se enviaron un total de 240 muestras de suero a los diferentes participantes, de los que 198 (82,5%) remitieron hoja de respuesta. De ellas, cinco no contenían resultados valorables e informaban que las determinaciones serológicas solicitadas no se realizaban en su laboratorio, por lo que en realidad fueron 193 los centros que aportaron resultados analizables, siendo el porcentaje de participación real del 80,4%.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VIH

La prueba de detección de anticuerpos frente al VIH tipos 1 y 2 fue realizada por 192 centros (99,5%) de los 193 que enviaron registros con resultados valorables (sólo un centro realizó directamente una técnica de confirmación). De estos 192 laboratorios, diez hicieron la prueba por duplicado, por lo que en realidad se analizan 202 determinaciones. De los diez participantes que realizaron esta detección dos veces, siete realizaron además una técnica de confirmación. En cuanto a la valoración cualitativa de los resultados, todos aportaron un resultado positivo coincidente con el laboratorio de referencia, excepto un centro que obtuvo un resultado negativo discrepante mediante una técnica de EIA de la que no informó marca. Los resultados se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Detección de anticuerpos anti-VIH 1+2: relación entre método y marca comercial empleada.

Método ^a /Marca	MEIA	EIA	ELFA	IQL	No consta	IMC	ECLIA	Total	
								Número	%
Axsym® Abbott	60	–	–	–	–	–	–	60	29,7
Abbott sin especificar	23	15	–	1	1	3	–	43	21,3
Vidas® bioMérieux	–	–	24	–	–	–	–	24	11,9
Cobas-Core® Roche	–	20	–	–	–	–	–	20	9,9
Dade-Behring	–	11	–	–	–	–	–	11	5,5
Vitros® Ortho	–	–	–	10	–	–	–	10	5,0
Bayer-Chiron	–	4	–	5	–	–	–	9	4,5
Access®	–	–	–	4	–	–	–	4	2,0
IMX® Abbott	4	–	–	–	–	–	–	4	2,0
Biotest	–	3	–	–	–	–	–	3	1,5
BioMérieux	–	3	–	–	–	–	–	3	1,5
Otros	–	4	–	1	–	–	2	7	3,5
No informa marca	–	2	–	–	2	–	–	4	2,0
Total	87	62	24	21	3	3	2	202	100

^aIMC: inmunocromatografía; ECLIA: enzoinmunoensayo electroquimioluminiscente; otras abreviaturas en el texto.

Como ha ocurrido de forma habitual en otros controles con este marcador, cabe destacar la utilización mayoritaria de las pruebas de enzoinmunoanálisis, fundamentalmente el MEIA, que es empleado en 87 ocasiones (43,1%), seguido del enzoinmunoensayo (EIA) sin especificar, utilizado 62 veces (30,7%). Le siguen en frecuencia, el enzoinmunoensayo fluorescente (ELFA) y la inmunoquimioluminiscencia (IQL), que fueron empleadas por 24 (11,9%) y 21 (10,4%) participantes, respectivamente.

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, y a pesar de la gran diversidad de equipos usados, puede apreciarse, tal y como cabría esperar del análisis de métodos, un claro predominio de los sistemas automatizados de Abbott (Axsym®, Abbott sin especificar) con un porcentaje global del 53,9%, seguidos, aunque a distancia, por los equipos de Vidas® (bioMérieux) y Cobas-Core® (Roche) con porcentajes del 11,9% y 9,9%.

No se puede analizar en este caso, el porcentaje de resultados discrepantes con el centro de referencia según la técnica y marca empleada, puesto que, mayoritariamente, se aportó un resultado positivo coincidente. Tan sólo en un 2,0% de los casos no se informó el equipo comercial empleado.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VIH: PRUEBA DE CONFIRMACIÓN

La prueba de confirmación de la infección por VIH fue realizada por 78 participantes (40,4%) de los 193 centros que remitieron hoja de respuesta con resultados analizables. Todos ellos aportaron un resultado positivo coincidente con el laboratorio de referencia, excepto un centro que no interpretó el patrón de bandas hallado pero que, en realidad, debería contabilizarse también como positivo.

Todos los centros emplearon una técnica equiparable, utilizando para ello de forma mayoritaria el equipo de *immunoblot* de Innogenetics y, en segundo lugar, el *western-blot* de Bio-Rad. Llama la atención el considerable porcentaje de centros (20,5%) que no informaron de la marca comercial empleada, lo que puede ser debido a que cierto número de ellos recurrieron a un laboratorio externo para dicha confirmación.

Tabla 2. Prueba de confirmación de anticuerpos anti-VIH 1: relación entre método y marca comercial empleada.

Método ^a /Marca	IB/WB	IER	No informa	Total	
				Número	%
Innogenetics	31	–	1	32	41,0
Bio-Rad	22	–	–	22	28,2
No informa	15	–	1	16	20,5
Biokit	4	–	–	4	5,1
Sanofi-Pasteur	2	–	–	2	2,6
Ortho Diagnostics	1	–	–	1	1,3
Bayer-Chiron	-	1	–	1	1,3
Total	75	1	2	78	100,0

^aIB: *immunoblot*. WB: *western blot*. IER: inmunoensayo recombinante.

De los 78 centros que realizaron la prueba de confirmación, fueron 21 laboratorios los que indicaron en sus comentarios que con esta prueba se confirmaba la positividad para el VIH tipo 1 y 23 centros los que informaron el patrón de bandas hallado. En este sentido, cabe comentar que, a pesar de la enorme variabilidad de los patrones de bandas informados, todos ellos se consideraron correctos puesto que en todos los casos se incluían las bandas necesarias para la interpretación positiva de la prueba. En la tabla 3, quedan reflejados los patrones informados por los laboratorios participantes.

Tabla 3. Patrones de bandas en las pruebas de confirmación de VIH.

Bandas	
P17,24,31,GP41,120	11
Todas las bandas	2
GP41,120	1
P24,31,GP41,120	1
P17,24,31,41,51,55,66,GP120,16	1
P17,24,31,55,66,GP41,160/120	1
P17,24,32,GP41,51,55,66,120,16	1
P18B,25,34,40,GP41,120,160	1
P25,34,40,52,55,68,GP41,120,16	1
Bandas p18-b, 25, 34, 40, 52, 55, 68, GP41, 110,/120, 160	1
Bandas POL: P34,52,68 GAG...P18,24,40,55ENV...GP41,120,160	1
Bandas 160,110,68,55,41,40,34	1

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE AL VHH8

La prueba de detección de anticuerpos de la clase IgG frente al VHH-8 fue realizada sólo por 22 laboratorios (11,4%) de los 193 que remitieron hoja de respuesta con resultados analizables. De ellos, doce centros (54,5%) aportaron un resultado negativo, coincidente con el laboratorio de referencia, y nueve participantes (40,9%) informaron un resultado positivo, discrepante por lo tanto. Sólo un centro (4,5%) no interpretó el valor numérico aportado.

Por lo que respecta a los métodos empleados, y tal como se puede observar en la tabla 4, las técnicas de EIA convencional y la inmunofluorescencia indirecta (IFA) fueron las empleadas mayoritariamente, con un porcentaje del 40,9% en ambos casos. Sólo tres centros (13,7%) no informaron del método empleado. Llama la atención, en este caso, el alto porcentaje de resultados discrepantes con el centro de referencia.

Es importante destacar que la mayoría de centros que informaron un resultado positivo emplearon la técnica IFA. En concreto, existe en el mercado una técnica de IFA comercializada por Biotrín, basada en la detección de anticuerpos de la fase lítica, que consigue una mayor sensibilidad que la IFA con antígeno nuclear latente, aunque puede dar reacciones cruzadas con otros herpesvirus, como el virus de Epstein-Barr (VEB), lo que podría explicar la

positividades informadas por los participantes que emplearon dicha técnica. Además, de los nueve centros que aportaron un resultado positivo, cinco informaron el valor del título, y tan sólo uno de ellos alcanzaba el límite establecido para la positividad por Biotrin (1/64); los otros cuatro, aunque no informaron la marca empleada aportaron valores entre 1/20 y 1/40. Sin embargo, el método de EIA comercializado también por Biotrin para la detección de anticuerpos de clase IgG, emplea una mezcla de antígenos de péptidos líticos, mostrando una elevada sensibilidad y especificidad sin reacciones cruzadas detectables con el VEB ni el VIH, según la propia casa comercial.

Tabla 4. Detección de anticuerpos IgG frente al VHH8 según método.

Método ^a	Positivo	Negativo	No interpreta	Total	
				Número	%
EIA	2	7	–	9	40,9
IFI	6	2	1	9	40,9
PCR	–	1	–	1	4,5
No informa	1	2	–	3	13,7
Total	9	12	1	22	100,0

^aAbreviaturas en el texto.

En cuanto a las marcas comerciales (tabla 5), llama la atención el elevado porcentaje de laboratorios (59,1%) que no informaron acerca del equipo empleado dado que, en su gran mayoría, recurrieron a un laboratorio externo para la realización de esta prueba. El resto de los centros emplearon equipos de Biotrin; en seis ocasiones realizaron la detección mediante un EIA (Diavir HHV8®), y en tres mediante una técnica de IFA (HHV8 IgG IFA®).

Tabla 5. Detección de anticuerpos IgG frente al VHH8 según método/marca comercial empleada.

Equipo comercial	Negativo	Positivo	No interpreta	Total	
				Número	%
No informa	5	7	1	13	59,1
Diavir HHV8® EIA Biotrin	6	–	–	6	27,3
HHV8 IgG IFA® Biotrin	1	2	–	3	13,6
Total	12	9	1	22	100,0

USO DE LABORATORIO EXTERNO Y CAPACITACIÓN TÉCNICA

Por lo que se refiere a la utilización del laboratorio externo, de los 193 participantes que enviaron hoja de respuesta con resultados válidos, 148 (76,7%) señalaron que no lo utilizaban, nueve centros (4,6%) afirmaron requerirlo y 22 participantes (11,4%) lo hicieron sólo parcialmente. Fueron 14 laboratorios (7,3%) los que no aportaron información alguna sobre este dato, por lo que desde el Control de Calidad se sigue insistiendo en la importancia de remitir todos los datos requeridos en las hojas de respuesta para hacer un análisis lo más ajustado posible a la realidad.

La valoración general del presente control es aceptable, si consideramos que la gran mayoría de centros son capaces de realizar la prueba fundamental para la detección de anticuerpos frente al VIH 1+2, e incluso un porcentaje no despreciable pueden informar las pruebas de confirmación, aunque hay que decir que no se trataba de una muestra con un nivel crítico de anticuerpos.

Sin embargo y a pesar de la baja dificultad técnica de las pruebas orientadas a la detección de anticuerpos frente al VHH8, son muy pocos los centros que disponen de los reactivos adecuados, por lo que el porcentaje de respuestas en este caso es muy bajo. A la vista de todo esto, tal vez sería interesante abrir el debate acerca de la capacitación técnica de los laboratorios para este marcador diagnóstico. Si tenemos en cuenta el bajo número de respuestas, y de que algunas de ellas, fueron obtenidas presumiblemente porque el participante derivó el análisis a un centro de referencia, tal vez podría argumentarse que la mencionada capacitación técnica es baja. Sin embargo, si analizamos las respuestas obtenidas, quedan patentes las limitaciones metodológicas de las pruebas disponibles, por lo que no parece inapropiado que la realización de estas pruebas se centren en unos pocos laboratorios especializados.

COMENTARIOS

En el presente control se analizaron 87 hojas de respuesta de participantes que efectuaban algún tipo de comentario, a veces varios, sobre los resultados serológicos hallados, por lo que el número total de comentarios analizados fue de 112. Algunos, por su extensión, debieron ser sintetizados, intentando no desvirtuar la idea que pretendían transmitir, por lo que desde el Control de Calidad se insiste de nuevo en que éstos sean lo más breves y concisos posible, para facilitar un análisis fidedigno de los mismos.

La mayor parte de los comentarios microbiológicos hechos por los participantes (37 laboratorios), hacen referencia, en primer lugar, a la imposibilidad de realizar el diagnóstico de la infección por el VHH8, añadiendo algunos que, de forma habitual, enviarían la muestra a su laboratorio de referencia (5 centros). Sin embargo unos pocos (4 participantes) aseguran que esta técnica no se realiza siquiera en su laboratorio de referencia habitual. En segundo lugar, destacan los 22 centros que confirman la positividad de la detección para el VIH tipo 1, seguidos de los 12

participantes que recomiendan la confirmación de la determinación de anticuerpos frente a este virus. Todos estos comentarios y otros quedan reflejados en la tabla 6.

Tabla 6. Comentarios técnico-microbiológicos realizados por los participantes.

Comentario	
No se realiza diagnóstico de VHH8 en este laboratorio	37
La muestra se envía a un laboratorio de referencia para el diagnóstico del VHH8	5
No se realiza diagnóstico de VHH8 en este laboratorio ni en el laboratorio de referencia	4
Detección de VHH8 pendiente	3
No se realiza la prueba VHH8 ni confirmación de VIH: se envía a un laboratorio de referencia	2
Infección confirmada para el VIH-1	22
Se recomienda confirmar la positividad de la prueba VIH	12
Confirmación VIH pendiente	2
Es aconsejable determinar la carga viral del VIH	2
La muestra se envía a un laboratorio de referencia para la confirmación de la prueba VIH	1
Banda GP36 de VIH-2 negativa	1
Bandas p18-b, 25, 34, 40, 52, 55, 68, gP41, 110, 120, 160 positivas	1
Bandas positivas: POL: P34, 52, 68; GAG: P18, 24, 40, 55; ENV: GP41, 120, 160.	1

En cuanto a los comentarios clínico-terapéuticos, cabe destacar los cuatro centros que comentan que no se trata de una seroconversión actual y los tres participantes que recomiendan realizar una detección serológica en la pareja. Hay dos participantes que hacen referencia a la pauta terapéutica a seguir; en ambos casos, se recomienda iniciar un tratamiento de antirretroviral múltiple (TARGA) y además uno de ellos añade un antiviral activo frente al VHH8. En otras ocasiones, se comenta la importancia de la infección por el VHH8 y su relación con el sarcoma de Kaposi, así como la idoneidad de la biopsia cutánea como método diagnóstico de esta entidad clínica. Hay un participante que afirma que no es importante la positividad o no del paciente respecto al VHH8, lo cual obliga a hacer un comentario al respecto, puesto que la presencia de anticuerpos frente al VHH8 se considera un factor primario y necesario para el desarrollo del sarcoma de Kaposi en los pacientes infectados por el VIH. El resto de los comentarios quedan reflejados en la tabla 7.

Tabla 7. Comentarios clínico-terapéuticos realizados por los participantes.

Comentario^a	
No existe una seroconversión actual	4
Es recomendable realizar serología del VIH a la pareja	3
Seroconversión a VIH	1
Infección en los últimos 7 años	1
El paciente debería haberse realizado una serología VIH anual	1
Paciente en situación clínica de sida	1
Iniciar TARGA	1
Se recomienda iniciar TARGA y tratamiento anti-VHH8 con cidofovir, ganciclovir o foscarnet.	1
Diagnóstico definitivo de SK basado en análisis de tejidos obtenidos por biopsia	2
SK se asocia a VHH8 y es frecuente en homosexuales.	1
Posible positividad de VHH8 por asociación a SK	1
Realizar serología o PCR de VHH8 aunque su negatividad no descartaría SK.	1
Paciente VIH+ con infección previa por VHH8	1
La positividad o no del VHH8 no es importante	1

^aAbreviaturas. SK: sarcoma de Kaposi; TARGA: tratamiento antirretroviral de gran actividad.