

CONTROL DE CALIDAD DE SEROLOGÍA (S-1/05)

En el presente control se remitió a los participantes una muestra de suero liofilizado que había sido analizado y valorado para la detección de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C (VHC) y frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tipos 1 y 2, por un centro de referencia con experiencia en el diagnóstico serológico y cuyos resultados fueron los siguientes:

- **Anticuerpos frente al VHC mediante ensayo electroquimioluminiscente (ECLIA): Positivo** (Architect® Abbott).
- **Anticuerpos frente al VIH 1 y 2 mediante ECLIA: Positivo** (Architect® Abbott).
- **Anticuerpos frente al VIH 1 mediante *immunoblot*: Positivo** (New Lab Blot I®, Bio-Rad).

La muestra pertenecía a una mujer de 40 años, dedicada a la prostitución, y con antecedentes de consumo de drogas por vía parenteral hacía 10 años, herpes genital y hepatitis B, que acudió a su médico por presentar, desde hacía varios meses, un cuadro progresivo de astenia, anorexia, pérdida de peso y ligera ictericia cutáneo-mucosa. En la exploración física, la paciente presentaba una ligera hepatomegalia y adenopatías cervicales; en el análisis de sangre, se detectó una elevación de las transaminasas y anemia ferropénica. Ante estos resultados, el médico decidió enviar una muestra de sangre al Laboratorio de Microbiología para la detección de anticuerpos frente al VIH y al VHC. Estas fueron las determinaciones solicitadas a los participantes, en la medida en que fuesen capaces de realizarlas, así como que formularan **sugerencias, comentarios e interpretación** de los resultados obtenidos.

Se enviaron un total de 236 muestras de suero a otros tantos participantes, de los que 209 (88,6%) 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 204 los centros que aportaron resultados analizables, siendo el porcentaje de participación real del 86,4%.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VHC

Esta determinación fue realizada por 195 centros (91,4%) de los 204 que enviaron hoja de respuesta con resultados valorables. De ellos, diez laboratorios realizaron la prueba por duplicado, por lo que se analizan 205 determinaciones. Todas ellas fueron informadas con un resultado positivo coincidente con el laboratorio de referencia excepto un centro, que aportó un resultado negativo discrepante, obtenido mediante un método de enzimoanálisis (EIA) de Bio-Rad, sin que se realizase una segunda prueba de cribado ni confirmación.

En la tabla 1 queda reflejada la relación de métodos y marcas empleados en esta determinación, observándose, un predominio de los sistemas de Abbott con un porcentaje global de utilización del 59,0%. En cuanto a las técnicas empleadas, se observa la utilización mayoritaria de los métodos de enzimoanálisis de micropartículas (MEIA) y el EIA sin especificar.

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

| Método ^a / Marca | MEIA | EIA | IQL | ECLIA | ELFA | No consta | IC | Total | |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|----------|------------|--------------|
| | | | | | | | | Número | % |
| Axsym® Abbott | 65 | – | – | – | – | – | – | 65 | 31,7 |
| Abbott sin especificar | 18 | 8 | – | 6 | – | – | 1 | 33 | 16,1 |
| Architect® Abbott | – | – | – | 16 | – | – | – | 16 | 7,8 |
| Cobas-Core® Roche | – | 13 | – | – | – | – | – | 13 | 6,3 |
| Innogenetics | – | 13 | – | – | – | – | – | 13 | 6,3 |
| Vitros® Ortho | – | – | 11 | – | – | – | – | 11 | 5,4 |
| Bayer Chiron | – | – | 10 | – | – | – | – | 10 | 4,9 |
| Ortho Clinic Diagnostic | – | 8 | 1 | – | – | – | – | 9 | 4,4 |
| IMX® Abbott | 7 | – | – | – | – | – | – | 7 | 3,4 |
| No informa marca | – | 2 | 1 | – | 1 | 3 | – | 7 | 3,4 |
| Roche | – | 6 | – | – | – | – | – | 6 | 2,9 |
| Vidas®bioMérieux | – | – | – | – | 3 | – | – | 3 | 1,5 |
| Access® Bio-Rad | – | – | 3 | – | – | – | – | 3 | 1,5 |
| Bio-Rad | – | 2 | – | – | – | – | – | 2 | 1,0 |
| Otros | – | 4 | 2 | – | – | – | 1 | 7 | 3,4 |
| Total | 90 | 56 | 28 | 22 | 4 | 3 | 2 | 205 | 100,0 |

^aAbreviaturas en el texto.

PRUEBA DE CONFIRMACIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VHC

La prueba de confirmación fue realizada por 71 laboratorios de los 195 (36,4%) que realizaron la de cribado con resultado positivo. Dos de los centros, además habían hecho la detección de anticuerpos con dos métodos distintos. Como se resume en la tabla 2, todos los laboratorios que realizaron esta prueba, confirmaron la presencia de anticuerpos frente a este virus. En cuanto a los métodos empleados, como puede observarse en la tabla 2, la gran mayoría de los centros emplea una técnica de *immunoblot* (94,4%) y tan sólo dos participantes (2,8%) no informaron acerca del método empleado. El equipo INNO-LiA® de Innogenetics, que utiliza un ensayo con proteínas recombinantes

fijadas a una membrana de nitrocelulosa, ha sido el equipo empleado mayoritariamente, con resultados coincidentes en su totalidad con el aportado por el centro que actuó como referencia. El resto de participantes emplea diversas marcas comerciales, destacando el equipo de Bio-Rad y seis (8,5%) participantes no informan acerca del equipo empleado. Todos estos datos están resumidos en la tabla 2.

Tabla 2. Confirmación del VHC: relación entre método y marca.

| Método ^a / Marca | IB/WB | No consta | Total | |
|-------------------------------|-------|-----------|--------|-------|
| | | | Número | % |
| INNO-LiA®/Innogenetics | 37 | – | 37 | 52,2 |
| Innogenetics, sin especificar | 17 | – | 17 | 23,9 |
| Deciscan® Bio-Rad | 3 | – | 3 | 4,2 |
| Bio-Rad | 3 | – | 3 | 4,2 |
| Ortho Clinical Diagnostics | 2 | – | 2 | 2,8 |
| Bayer-Chiron | 1 | – | 1 | 1,4 |
| Dade-Behring | 1 | – | 1 | 1,4 |
| DiaSorin | 1 | – | 1 | 1,4 |
| No informa | 4 | 2 | 6 | 8,5 |
| Total | 69 | 2 | 71 | 100,0 |

^aIB: *immunoblot*, WB: *westernblot*

El patrón de bandas fue informado por 24 laboratorios (33,8%) de los 71 centros que realizaron la técnica de confirmación. El patrón más frecuente es el informado en 15 ocasiones que detecta las siguientes bandas: C1, C2, E2, NS3, NS4, NS5. Existe cierta variabilidad entre los distintos centros lo que puede ser debido, en parte, a las distintas marcas comerciales usadas y a la interpretación subjetiva de la intensidad de las bandas.

Tabla 3. Patrones de bandas del ensayo confirmatorio.

| Bandas | Número | % |
|---------------------------|--------|-------|
| C1, C2, E2, NS3, NS4, NS5 | 15 | 62,4 |
| C1, C2, NS3, NS4 | 2 | 8,3 |
| Todas las bandas | 2 | 8,3 |
| C1, C2, E1, NS3, NS4, NS5 | 1 | 4,2 |
| C1, C2, E2, NS3, NS4 | 1 | 4,2 |
| C, NS3, NS4, NS5 | 1 | 4,2 |
| C1, C2, NS3, NS4, NS5 | 1 | 4,2 |
| C1, C2, E2, NS3, NS5 | 1 | 4,2 |
| Total | 24 | 100,0 |

Detección del RNA del VHC por PCR

Fueron ocho los laboratorios que realizaron una detección cualitativa del RNA del VHC mediante PCR. De ellos, tan sólo un centro hizo esta determinación junto a la prueba de cribado y al *immunoblot* de confirmación, mientras que los siete restantes utilizaron la detección cualitativa del RNA como método confirmatorio del resultado obtenido con la prueba de cribado. Todas ellas obtuvieron, como cabía esperar, un resultado positivo. En cuanto a los equipos comerciales, cuatro centros emplearon Cobas Amplicor® de Roche, tres no informaron al respecto y uno realizó una PCR *in house*. Finalmente, hubo dos de estos laboratorios que determinaron la carga viral del VHC mediante PCR, uno con los equipos de Roche, y otro sin informar marca, con resultado positivo en ambos casos.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VIH TIPOS 1 Y 2

Esta prueba fue realizada por 203 centros de los 204 (99,5%) que enviaron registros con resultados valorables. De ellos, ocho llevaron a cabo la prueba por dos métodos distintos, por lo que en realidad se analizaron 211 determinaciones del VIH1+2. Todas ellas aportaron un resultado positivo coincidente con el laboratorio de referencia.

Por lo que respecta a los métodos empleados, y de forma similar a lo que ha ocurrido en otros controles de esta determinación, cabe destacar la utilización mayoritaria de las pruebas de enzimoimmunoanálisis, fundamentalmente el MEIA, que es empleado en 91 ocasiones (43,1%), seguido del EIA sin especificar, utilizado 56 veces (26,5%). Le siguen en frecuencia, la inmunoquimioluminiscencia (IQL), el enzimoimmunoensayo fluorescente (ELFA) y el inmunoensayo EL ECLIA, que fueron empleadas por 26 (12,3%), 17 (8,1%) y 15 (7,1%) participantes, respectivamente (tabla 4).

En cuanto a las marcas comerciales empleadas, y a pesar de la gran diversidad de equipos usados, existe un claro paralelismo con las técnicas empleadas, lo que se manifiesta por un predominio de los sistemas automatizados de Abbott (AxSYM®, Abbott sin especificar, Architect® e IMX®) con un porcentaje global del 56,0%, seguidos a distancia por los equipos de Dade-Behring, Vitros®/Ortho y Vidas®/bioMérieux. Tan sólo en un 2,8% de los centros no informaron el equipo comercial empleado. Lógicamente, no se puede analizar en este caso, el porcentaje de resultados discrepantes con el centro de referencia según técnica y marca empleada, puesto que, todos los participantes que realizaron esta determinación, obtuvieron un resultado positivo coincidente con dicho laboratorio.

Tabla 4. Detección de anticuerpos frente a VIH 1+2: relación entre método y marca comercial empleada.

| Método ^a /Marca | MEIA | EIA | IQL | ELFA | ECLIA | No consta | ICMA | Total | |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|------------|--------------|
| | | | | | | | | Número | % |
| AxSYM® Abbott | 67 | – | – | – | – | – | – | 67 | 31,8 |
| Abbott sin especificar | 19 | 9 | – | – | 5 | 1 | 2 | 36 | 17,1 |
| Dade-Behring | – | 14 | – | – | – | – | – | 14 | 6,7 |
| Vitros® Ortho | – | 1 | 12 | – | – | – | – | 13 | 6,2 |
| Vidas® bioMérieux | – | – | – | 12 | – | – | – | 12 | 5,7 |
| Bayer-Chiron | – | – | 11 | – | – | – | – | 11 | 5,2 |
| Cobas-Core® Roche | – | 10 | – | – | – | – | – | 10 | 4,7 |
| Architect® Abbott | – | – | – | – | 10 | – | – | 10 | 4,7 |
| Roche | – | 7 | – | – | – | – | – | 7 | 3,3 |
| BioMérieux | – | 1 | – | 5 | – | – | – | 6 | 2,8 |
| No informa marca | – | 3 | – | – | – | 3 | – | 6 | 2,8 |
| IMX® Abbott | 5 | – | – | – | – | – | – | 5 | 2,4 |
| Bio-Rad | – | 3 | – | – | – | – | – | 3 | 1,4 |
| Biotest | – | 2 | – | – | – | – | – | 2 | 0,9 |
| Access® Bio-Rad | – | – | 2 | – | – | – | – | 2 | 0,9 |
| DiaSorin | – | 2 | – | – | – | – | – | 2 | 0,9 |
| Elecsys® Roche | – | – | 1 | – | – | – | – | 1 | 0,5 |
| Otros | – | 4 | – | – | – | – | – | 4 | 1,9 |
| Total | 91 | 56 | 26 | 17 | 15 | 4 | 2 | 211 | 100,0 |

^aICMA: Inmunocromatografía de membrana; resto de abreviaturas en el texto y tablas anteriores.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VIH: PRUEBA DE CONFIRMACIÓN

Esta prueba confirmatoria fue realizada por 85 participantes (41,9%) de los 203 centros que remitieron hoja de respuesta con resultados analizables. Todos ellos aportaron un resultado positivo coincidente con el laboratorio de referencia y todos habían realizado previamente una prueba de cribado, excepto dos participantes que realizaron la prueba de cribado por duplicado. Como se observa en la tabla 5, 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. Un porcentaje considerable de laboratorios (10,6%) no informó la marca comercial empleada debido, por lo general, a que recurrieron a un laboratorio externo para dicha confirmación.

Tabla 5. Prueba de confirmación de anticuerpos anti-VIH 1 y 2: relación entre método y marca comercial empleada.

| Método ^a /Marca | IB/WB | No consta | Total | |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| | | | Número | % |
| INNO-LiA® Innogenetics | 44 | – | 44 | 51,7 |
| Bio-Rad | 23 | – | 23 | 27,1 |
| No informa | 8 | 1 | 9 | 10,6 |
| Biokit | 7 | – | 7 | 8,2 |
| Sanofi-Pasteur | 1 | – | 1 | 1,2 |
| DiaSorin | 1 | – | 1 | 1,2 |
| Total | 84 | 1 | 85 | 100,0 |

^aIB: *immunoblot* WB: *western blot*.

De los 85 centros que realizaron la prueba de confirmación, fueron 38 laboratorios (44,7%) los que indicaron explícitamente que con esta prueba se confirmaba la positividad para el VIH tipo 1 y 28 centros (32,9%) los que informaron el patrón de bandas hallado (tabla 6).

Tabla 6. Patrones de bandas de confirmación de VIH.

| Bandas | Número |
|------------------------------------|--------|
| gP120,41,p31,24,17 | 18 |
| gP160,120,41,p66,55,51,32,24,17 | 2 |
| gP120,41 | 1 |
| gP110,41,p68,55,34,25,18 | 1 |
| gP120,41,p68,55,52,40,34,25,18 | 1 |
| gP160,120,41,p66,51,31,24,17 | 1 |
| gP160,120,41,p66,55,51,24,17 | 1 |
| gP160,120,41,p68,55,24,18 | 1 |
| gP160,120,p68,55,52,41,40,34,24,18 | 1 |
| Todas las bandas | 1 |

A pesar de la variabilidad de los patrones de bandas informados, en parte debida a los distintos equipos empleados para la confirmación, todos se consideraron correctos puesto que en todos los casos se incluían las bandas necesarias para la interpretación positiva de la prueba.

USO DE LABORATORIO EXTERNO Y CAPACITACIÓN TÉCNICA

Por lo que se refiere a la utilización del laboratorio externo, de los 204 participantes que enviaron hoja de respuesta con resultados valorables, 164 (80,4%) señalaron que no lo utilizaban, ocho centros (3,9%) afirmaron requerirlo y 21 participantes (10,3%) lo hicieron sólo parcialmente. Once laboratorios (5,4%) no aportaron datos al respecto, por lo que desde el Control de Calidad se sigue insistiendo en la importancia de remitir toda la información requerida 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 VHC y VIH 1+2, e incluso un porcentaje no despreciable pueden informar las pruebas de confirmación.

COMENTARIOS

En el presente control se analizaron 61 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 69. Algunos, por su extensión, debieron ser sintetizados por parte del Programa de Control de Calidad, intentando no desvirtuar la idea que pretendían transmitir.

La mayor parte de los comentarios (52) fueron de tipo técnico-microbiológico y muchos de ellos hacían referencia a la necesidad o no de realizar una prueba de confirmación. En este sentido podemos argumentar, que según las recomendaciones dadas en el *Morbidity and Mortality Weekly Report* Vol. 52 sobre el estudio e interpretación de resultados del VHC, la positividad en una prueba de cribado (EIA) con un relación 3,8 veces igual o superior al *cut off* instrumental es altamente predictivo de verdadera positividad. Con esta aseveración, podríamos explicar el comentario de tres participantes, quienes indican que no es necesario realizar prueba de confirmación del VHC. Por otra parte, son varios los centros que recomiendan la realización de la carga viral de VIH y VHC y el genotipo del VHC con el fin de evaluar un posible tratamiento. Finalmente, es importante comentar que hay cinco centros que afirman no realizar la serología de la hepatitis en su laboratorio. Todos estos comentarios quedan reflejados en la tabla 7.

Los comentarios clínico-terapéuticos (tabla 8) son escasos y, en general, están orientados a remarcar la situación de coinfección VIH/VHC en la que se encuentra el paciente. Algunos de ellos hacen hincapié en la posibilidad de una rápida progresión de la hepatitis, como consecuencia de la infección simultánea por ambos virus. Hay algún centro que hace referencia a los factores de riesgo que presentaba la paciente.

Tabla 7. Comentarios técnico-microbiológicos realizados por los participantes.

| Comentario | |
|---|----|
| Realizar confirmación de VHC y VIH | 10 |
| Realizar carga y genotipo de VHC | 8 |
| Realizar pruebas de confirmación en laboratorio de referencia | 5 |
| Realizar confirmación de VIH | 5 |
| No se realiza serología de hepatitis en este laboratorio | 5 |
| No procede confirmación de VHC/ Sólo se confirman resultados para VHC con índice bajo | 4 |
| Realizar carga de VHC | 2 |
| No se realiza confirmación por motivos técnicos | 2 |
| Realizar carga viral de VIH1 | 2 |
| Realizar carga VIH y VHC para valorar tratamiento | 2 |
| No se recomienda realización de RIBA3 | 1 |
| Confirmación de VHC por segunda prueba de cribado | 1 |
| Se detecta también antígeno P24 | 1 |
| Accidente de laboratorio, derrame de la muestra | 1 |
| Realizar confirmación VIH | 1 |
| Existe una reacción cruzada VIH1-VIH2 (patrón indeterminado) | 1 |
| Título de antígeno no determinable por la gran cantidad de anticuerpo | 1 |

Tabla 8. Comentarios sobre aspectos clínicos realizados por los participantes.

| Comentario | |
|--|----|
| Coinfección VIH/VHC | 10 |
| Existen como factores de riesgo: prostitución y ADVP | 2 |
| Hepatitis de progresión rápida por coinfección con VIH | 2 |
| Posible coinfección VIH/VHC | 1 |
| Descartar hepatitis por reactivación de VHB | 1 |
| Hepatitis por VHC en paciente con VIH | 1 |