

CONTROL DE CALIDAD DE SEROLOGÍA (S-4/05)

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) por un centro de referencia con experiencia en el diagnóstico serológico, y cuyos resultados fueron los siguientes:

- **Antígeno de superficie del VHB (HBsAg) mediante MEIA:** Positivo débil (AxSYM® Abbott).
- **Antígeno de superficie del VHB (HBsAg) mediante EIA:** Negativo (DiaSorin).
- **Anticuerpos frente al antígeno de superficie del VHB (anti-HBs) por CMIA:** >200 mIU/mL (Architect® Abbott).
- **Anticuerpos totales frente al antígeno del core (anti-HBc) mediante CMIA:** Positivo (Architect® Abbott).
- **Anticuerpos IgM frente al antígeno del core (anti-HBc IgM) mediante CMIA:** Negativo (Architect® Abbott).
- **Antígeno “e” del VHB (HBeAg) mediante CMIA:** Negativo (Architect® Abbott).
- **Anticuerpos frente al antígeno “e” (anti-HBe) del VHB:** Negativo (Architect® Abbott).
- **Neutralización del antígeno de superficie del VHB mediante MEIA:** Negativo (AxSYM® Abbott).
- **Cuantificación DNA del VHB mediante PCR:** Positivo (Cobas-Core® Roche).

NOTA IMPORTANTE: dado que, según el sistema comercial usado, se detectaron resultados discrepantes en el patrón serológico del VHB (sobretudo en la detección del HBsAg) y puesto que, mediante técnicas de microbiología molecular se constató la presencia de DNA del VHB, se realizó una secuenciación completa de la región del antígeno de superficie. Se detectó que la población mayoritaria del VHB era del genotipo A2 (o Ae) sin presencia de mutantes de escape. En este mismo estudio, también se detectó una *delección* que afectaba a 20 aminoácidos (del 118 al 138) en la región preS, la cual producía una disminución de la expresión del antígeno de superficie y, por lo tanto, reducía fuertemente la cantidad de HBsAg producido, apuntándose ésta como la causa de que la mayoría de las técnicas serológicas empleadas por los participantes para la detección de HBsAg fueron negativas. A esto se une el hecho de que la muestra presentaba una elevada concentración de anti-HBs, lo cual también podría enmascarar los epitopos detectables en la mayoría de los ensayos de diagnósticos.

La muestra de suero pertenecía a un paciente con el que una enfermera había sufrido una punción accidental durante una extracción, quien acudió al Servicio de Salud Laboral para adoptar las medidas de control oportunas. El paciente índice era un enfermo positivo para los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y de la hepatitis C (VHC), desconociéndose el estado actual de los marcadores del VHB, y al que se le extraía sangre para sus controles habituales. La enfermera era negativa para los marcadores anteriores y había sido vacunada recientemente, pero de forma incompleta, frente al VHB. Siguiendo el protocolo de actuación, se realizó una extracción sanguínea a ambos, solicitándose los marcadores serológicos frente al VIH, VHC y VHB. La enfermera resultó seronegativa frente a VIH y VHC y presentaba una detección positiva de anti-HBs (10 mIU/mL). En el paciente se confirmó la infección por el VIH y el VHC, por lo que, tras valorar otros factores de riesgo, se decidió administrar profilaxis post-exposición con antirretrovirales a la enfermera. Se solicitó a los participantes la determinación de algunos marcadores serológicos del VHB (HBsAg, anti-HBs y anti-HBc totales), así como la interpretación de los resultados obtenidos, comentarios y sugerencias sobre la actitud a tomar.

Se enviaron un total de 238 muestras de suero a los diferentes laboratorios, de los que 197 (82,8%) remitieron hoja de respuesta. De ellas, 7 (3,5%) no realizaron ninguna de las determinaciones solicitadas explícitamente en este control, informando que éstas no se realizaban en el laboratorio de microbiología, por lo que en realidad fueron 190 los centros que aportaron resultados analizables, siendo el porcentaje de participación real del 79,8%.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DEL ANTÍGENO DE SUPERFICIE DEL VHB (HBsAg)

La detección del antígeno de superficie del VHB fue realizada por 187 centros (98,4%) de los 190 que enviaron registros con resultados valorables. De esos 187 laboratorios que realizaron la determinación, once la llevaron a cabo mediante dos técnicas diferentes, por lo que en realidad se analizaron 198 determinaciones del HBsAg. De éstas, 134 (67,7%) obtuvieron un resultado negativo, 59 (29,8%) positivo (19 de éstas positivo débil), cuatro (2,0%) indeterminado y un centro no interpretó el resultado obtenido. Estos datos quedan reflejados en la figura 1.

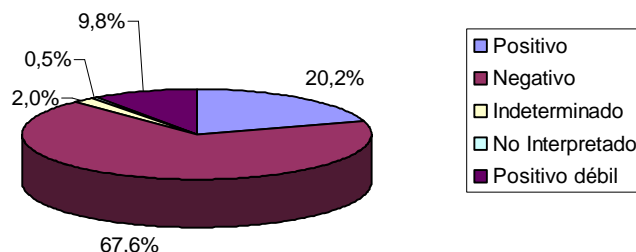


Figura 1. Resultados de la detección del HBsAg.

En cuanto a los métodos empleados, cabe destacar la utilización mayoritaria de las pruebas de enzimoimmunoensayo (EIA), fundamentalmente el de micropartículas (MEIA), que es empleado en 80 ocasiones (40,4%), seguido de una técnica de inmunoquimioluminiscencia (IQL) utilizada 38 veces (19,7%) y del EIA sin

especificar, usado en 29 ocasiones (14,6%). Llama la atención que el 71,2% de los participantes que realizaron la determinación mediante una técnica de MEIA informaron un resultado positivo/positivo débil y de éstos, diez centros, realizaron otra determinación de HBsAg mediante otra técnica distinta, obteniendo todos ellos resultados negativos con la segunda técnica, con la excepción de un centro que obtuvo en ambas detecciones resultados positivos. Otros cuatro de los participantes con resultados de positivo débil realizaron una prueba de neutralización de antígeno, informando todos ellos un resultado negativo. Por último, en seis de las ocasiones con resultado positivo para el HBsAg, se realizó una determinación de carga viral del VHB, detectándose entre 4000 y 8000 copias/mL. Resumiendo, de entre todos los laboratorios que obtuvieron un resultado positivo/positivo débil mediante MEIA, sólo 20 intentaron descartar mediante la repetición de la prueba mediante otra técnica distinta a la usada inicialmente, con la neutralización de antígeno mediante la misma técnica o por PCR que no se tratase de un falso positivo; concluyendo en los dos primeros casos que se trataba de un falso positivo, excepto el participante que obtiene dos resultados positivos, y en el último (PCR) que no lo era. La distribución de resultados según método empleado se resume en la tabla 1.

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

Método	Positivo/ Positivo débil	No interpreta	Negativo	Indeterminado	Total	
					Número	%
MEIA	57	1	18	4	80	40,4
IQL	–	–	39	–	39	19,7
EIA	–	–	29	–	29	14,6
CMIA	–	–	17	–	17	8,6
ELFA	1	–	15	–	16	8,1
ECLIA	–	–	13	–	13	6,6
ICMA	–	–	1	–	1	0,5
No consta	1	–	2	–	3	1,5
Total	59 (29,8%)	1 (0,5%)	134 (67,7%)	4 (2,0%)	198	100,0

^aAbreviaturas: ECLIA: enziminmunoensayo electroquimioluminiscente; ELFA: enzimoimunoensayo fluorescente; ICMA: inmunocromatografía de membrana; CMIA: inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscente; resto de abreviaturas definidas en el texto.

En la tabla 2, se muestran los datos obtenidos según la marca comercial empleada. De las 198 determinaciones realizadas, sólo en siete ocasiones (3,5%) no se aporta información al respecto. A pesar de la amplia variedad de equipos comerciales usados, destaca la utilización mayoritaria, como cabría esperar del análisis de métodos, de los sistemas de Abbott (sin especificar, Axsym® y Architect®), seguidos por Vitros® (Ortho), Advia-Centaurus® (Bayer) y Elecsys® (Roche). Como se desprende de la tabla 2, todos los resultados positivos (comentados en el apartado de métodos -MEIA-), con la excepción de uno, se obtienen mediante Axsym® (Abbott).

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

Marca	Positivo/ Positivo débil	No interpreta	Negativo	Indeterminado	Total	
					Número	%
Axsym® (Abbott)	50	1	9	4	64	32,3
Abbott sin especific.	7	–	12	–	19	9,6
Vitros® (Ortho)	–	–	18	–	18	9,1
Architect® (Abbott)	–	–	17	–	17	8,6
Elecsys® (Roche)	–	–	13	–	13	6,6
Advia-Centaurus®	–	–	14	–	14	7,1
Vidas®	1	–	15	–	16	8,1
DiaSorin	–	–	5	–	5	2,5
Dade-Behring	–	–	6	–	6	3,0
Cobas® Core	–	–	6	–	6	3,0
Otros	–	–	13	–	13	6,6
No informa	1	–	6	–	7	3,5
Total	59 (29,8%)	1 (0,5%)	134 (67,7%)	4 (2,0%)	198	100,0

^aEntre paréntesis, porcentaje que obtiene cada uno de los resultados sobre el total de participantes.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS anti-HBs

La prueba de detección de anticuerpos frente al antígeno de superficie del VHB fue realizada por 172 participantes (90,5%) de los 190 que enviaron hoja de respuesta analizable. El 100% de los laboratorios que informaron esta prueba, obtuvo un resultado positivo, coincidente con el aportado por el laboratorio de referencia. En cuanto a los métodos usados, de nuevo hay que destacar la utilización preponderante de las pruebas de EIA, especialmente de micropartículas (MEIA), que es empleado en 69 ocasiones (40,1%), seguidos de la IQL y del EIA sin especificar, utilizados en 33 (19,2%) y 27 (15,7%) ocasiones, respectivamente.

Tabla 3. Detección de anti-HBs: resultados según método empleado.

Método	Positivo	Otras interpretaciones	Total	
			Número	%
MEIA	69	–	69	40,1
IQL	33	–	33	19,2
EIA	27	–	27	15,7
CMIA	17	–	17	9,9
ECLIA	12	–	12	7,0
ELFA	10	–	10	5,8
No consta	4	–	4	2,3
Total	172	0	172	100,0

^aAbreviaturas: ver texto y tablas anteriores.

Con respecto a los equipos comerciales empleados, se mantiene la amplia variedad de éstos pero destacando, al igual que en el caso anterior, el uso mayoritario de los sistemas de Abbott (Axsym®, Architect®). Como se puede observar, la distribución por marcas comerciales es muy similar a la reflejada para la detección del HBsAg (tabla 4).

Tabla 4. Detección de anticuerpos anti-HBs: resultados según marca comercial utilizada.

Marca	Positivo	%
Axsym® Abbott	54	31,4
Abbott sin especificar	18	10,5
Vitros® (Ortho)	17	9,9
Architect® (Abbott)	17	9,9
Elecsys (Roche)	12	7,0
Advia-Centaurus (Bayer)	11	6,4
Vidas® (bioMérieux)	10	5,8
DiaSorin	5	2,9
Dade-Behring	6	3,5
Cobas® Core (Roche)	4	2,3
Otros	12	7,0
No informa	6	3,5
Total	172	100,0

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL ANTÍGENO CORE DEL VHB (anti-HBc).

Esta determinación es realizada por 177 (93,1%) de los 190 laboratorios que remiten hoja de respuesta analizable. De estos 177, 169 (95,5%) obtuvieron un resultado positivo coincidente con el laboratorio de referencia. El resto (4,5%) informó un resultado negativo, sin que se asociase este resultado erróneo con un determinado equipo: en una ocasión Axsym® (Abbott), Vidas® (bioMérieux), Dade-Behring, Advia-Centaurus® (Bayer), en dos Vitros® (Ortho) y en otras dos no constaba la marca. En cuanto a los métodos, se mantiene la distribución comentada en los apartados anteriores, siendo las más empleadas las técnicas de MEIA con un porcentaje del 42,4%, la IQL con el 20,3% y el EIA sin especificar con el 15,8%. Con respecto a las marcas comerciales empleadas, siguen siendo los sistemas automatizados de Abbott los más usados, con un porcentaje total del 51,4%. Los datos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5. Detección de anti-HBc (totales): relación método y marca comercial empleada.

Método ^a /Marca	MEIA	EIA	ECLIA	ELFA	IQL	CMIA	No consta	Total	
								Número	%
Axsym® Abbott	61	–	–	–	–	–	–	61	34,5
Abbott sin especificar	11	5	–	–	–	–	1	17	9,6
Vitros® (Ortho)	–	–	–	–	17	–	–	17	9,6
Architect® (Abbott)	–	–	–	–	–	16	–	16	9,0
Advia-Centaurus®	–	–	–	–	12	–	–	12	6,8
Elecsys® (Roche)	–	–	12	–	–	–	–	12	6,8
Vidas® (bioMérieux)	–	–	–	7	–	–	–	7	3,9
DiaSorin	–	6	–	–	–	–	–	6	3,4
Cobas-Core® (Roche)	–	6	–	–	–	–	–	6	3,4
IMX® Abbott	3	–	–	–	–	–	–	3	1,7
Bayer-Chiron	–	–	–	–	2	–	–	2	1,1
Otros	–	8	–	–	4	–	–	12	6,8
No informa marca	–	3	–	–	1	–	2	6	3,4
Total	75	28	12	7	36	16	3	177	100,0

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL ANTÍGENO DEL CORE DE TIPO IgM (anti-HBc IgM)

La prueba de detección de anticuerpos de tipo IgM frente al antígeno del *core*, a pesar de no ser una de las pruebas solicitadas, fue realizada por 51 (26,8%) de los 190 laboratorios que emiten hoja de respuesta valorable. Todos ellos obtuvieron un resultado negativo coincidente con el laboratorio de referencia. El método más frecuentemente utilizado fue el MEIA, empleado por 25 (49,0%) de los 51 laboratorios que realizan esta determinación. En cuanto a los equipos comerciales, como ya sucede en el resto del análisis de otras determinaciones, destaca el sistema AxSYM® (Abbott), que fue utilizado por 20 (39,2%) de los 51 centros que realizan esta determinación.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DEL ANTÍGENO “e” DEL VHB (HBeAg)

La detección del antígeno “e” del VHB fue realizada por 58 laboratorios (30,5%) de las 190 respuestas valorables. Todos ellos obtuvieron un resultado negativo coincidente con el laboratorio de referencia, excepto un centro discrepantes (positivo). En cuanto a los métodos empleados destaca, como en el resto de ocasiones, la técnica de MEIA usada por 30 (51,7%) de los 58 centros que realizaron esta determinación. Con respecto a las marcas comerciales destaca, de acuerdo con el método más usado, el equipo AxSYM® de Abbott, que es empleado por 24 laboratorios (41,4%). El único resultado discrepante (positivo) se obtiene con este último equipo comercial.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL ANTÍGENO “e” DEL VHB (anti-HBe)

La prueba de detección de anticuerpos frente al antígeno “e” del VHB fue realizada por 63 laboratorios (33,1%) de los 190 que enviaron hoja de respuesta válida. De ellos 53 (84,1%) obtuvieron un resultado negativo, coincidente con el laboratorio de referencia. De nuevo, el MEIA fue el método más utilizado (36 centros, 57,1%) y consecuentemente, son los sistemas automatizados de Abbott, sobre todo AxSYM® (47,6%), los equipos más usados. De las diez ocasiones en que se aportan resultados discordantes con los aportados por el laboratorio de referencia, en seis ocasiones fue mediante el equipo Vidas® (bioMérieux), siendo positivos el 100% de los resultados obtenidos por este sistema.

USO DE LABORATORIO EXTERNO Y CAPACITACIÓN TÉCNICA

Por lo que se refiere a la utilización del laboratorio externo, de los 197 participantes que enviaron hoja de respuesta, 169 (85,8%) señalaron que no lo utilizaban y 17 (8,6%) afirmaron requerirlo, 13 de ellos sólo parcialmente. Fueron 1 los laboratorios (5,6%) que no aportaron información al respecto. Desde el Control de Calidad se insiste en que se consignen todos aquellos datos requeridos en las hojas de respuesta, para poder hacer un análisis de resultados lo más ajustado posible a la realidad. En general, se puede concluir que la mayor parte de los laboratorios participantes son capaces de realizar las pruebas fundamentales para este control (detección del HBsAg, anti-HBs y anti-HBc) y, aunque la muestra remitida en este control era muy inusual, sería aconsejable identificar la frecuencia real de este tipo de “deleciones” del VHB que pueden escapar a los equipos de diagnóstico serológico comercializados.

COMENTARIOS

En total, fueron 115 (58,4%) los laboratorios participantes que realizaron un total de 189 comentarios, que se han dividido en clínico-terapéuticos (tabla 6) y de tipo técnico (tabla 7).

Tabla 6. Comentarios clínico-terapéuticos.

Comentario	Número	% ^a
Patrón de hepatitis B pasada y curada	47	40,9
Completar la vacunación de la enfermera	22	19,1
Completar la vacunación y administrar la gammaglobulina a la enfermera	6	5,2
Enfermera inmunizada frente al VHB	12	10,4
No existe posibilidad de contagio a la enfermera	16	13,9
Enfermera con nivel de protección frente a VHB dudoso	5	4,3
Paciente y enfermera inmunizados frente al VHB	4	3,5
No administrar gammaglobulina a la enfermera	2	1,8
Controles serológicos a los 3-6 meses y 1 año de VHC y VIH	3	2,6
Hepatitis B crónica	6	5,2
Descarta infección por variantes de VHB	3	2,6
Posible infección por un VHB distinto	1	0,9
Infección crónica por otro serotipo de VHB	1	0,9
Posible hepatitis B con baja replicación	2	1,8
Total comentarios	189	164,3

^aSobre las 115 hojas de respuesta con comentarios.

Cabe destacar, como era de esperar, la existencia de comentarios contradictorios entre los participantes que detectaron HBsAg positivo o DNA del VHB y los centros que obtuvieron resultados negativos frente al antígeno de superficie. Así, en la primera opción figuran comentarios como que el AxSYM® (Abbott) podía dar falsos positivos del HBsAg, que sería conveniente realizar una prueba de neutralización o PCR de VHB, que el patrón serológico era atípico

o que debería completarse la pauta vacunal de la enfermera además de administrarle la gammaglobulina; en la segunda opción hay comentarios del tipo como que tanto la enfermera como el paciente estaban inmunizados frente a la hepatitis B, que no era necesario administrarle la gammaglobulina a la enfermera, que no había riesgo de contagio o que se trataba de un patrón de hepatitis B pasada y curada. También cabe reseñar el no despreciable número de centros que comentan no realizar, de forma total o parcial, la serología del VHB en el laboratorio de microbiología, encargándose de ella otros laboratorios (bioquímica, hematología y análisis clínicos).

Tabla 7. Comentarios técnico-microbiológicos.

Comentario	Número	%^a
Sería conveniente realizar neutralización del HBsAg o PCR	11	9,6
AxSYM puede dar falsos positivos de HBsAg	7	6,1
La prueba de neutralización ha dado negativa	2	1,8
No disponemos de prueba de neutralización de antígeno de superficie	1	0,9
Muestra insuficiente para confirmar positividad del HBsAg	7	6,1
Es necesario realizar un estudio molecular	1	0,9
La carga viral se realiza en el laboratorio de referencia	3	2,6
Patrón serológico atípico	2	1,8
Ha negativizado los anti-HBe	2	1,8
En inmunodeprimidos o tratamiento antiviral puede coexistir HBsAg con anti-HBs	1	0,9
Fase seroconversión de HBsAg a anti-HBs	2	1,8
En pacientes VIH resultados incompletos del complejo "e"	1	0,9
Se trata de una variante de escape del VHB	1	0,9
Descartar mutante doble S/precórea	1	0,9
Determinar DNA de VHB para descartar mutante pre-core	2	1,8
Algunos de los marcadores de VHB no se realizan en microbiología	1	0,9
La serología solicitada se realiza en bioquímica o análisis clínicos	3	2,6
La serología solicitada se realiza en hematología	1	0,9
La serología solicitada no se realiza en nuestro laboratorio	6	5,2
Sólo realizamos el HBsAg	1	0,9
Sólo realizamos el HBsAg y los anti-HBc totales	1	0,9
Solicitar una segunda muestra de suero	1	0,9
Muestra no recibida	1	0,9
Total comentarios	189	164,3

^aSobre las 115 hojas de respuesta con comentarios.