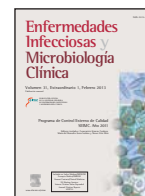




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Análisis de resultados del Programa de Control de Calidad Externo de carga viral del VIH-1, del VHC y del VHB. Año 2011

Nieves Orta Mira^{a,b,*}, María del Remedio Guna Serrano^{a,c}, José-Carlos Latorre Martínez^a, María Rosario Ovies^a, Marta Poveda^a, Enrique Ruiz de Gopegui^{a,d} y Concepción Gimeno Cardona^{a,c,e}

^aPrograma de Control de Calidad Externo SEIMC

^bServicio de Microbiología, Hospital Francesc de Borja, Gandía, Valencia, España

^cServicio de Microbiología, Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, Valencia, España

^dServicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, España

^eServicio de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, España

RESUMEN

Palabras clave:

VHB
VHC
VIH-1
Carga viral
Control de calidad externo
Intercomparación

Las determinaciones de la carga viral de los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), de la hepatitis C (VHC) y de la hepatitis B (VHB) son marcadores microbiológicos fundamentales para el seguimiento y control de los pacientes infectados por estos virus. Los laboratorios de microbiología deben disponer de herramientas que garanticen la fiabilidad de sus resultados; entre ellas se encuentran los programas de intercomparación externos. En el presente número se muestra el análisis de resultados del Programa de Control de Calidad SEIMC de carga viral de los 3 virus y del genotipado del VHC, realizados durante el año 2011.

En el control de VIH-1 se remitieron 5 estándares, de los que 1 (plasma humano seronegativo) no contenía el virus, y los otros 4 consistían en plasma de 3 pacientes víremicos distintos en un intervalo de concentraciones entre 2-5 log₁₀ copias/ml; 2 de ellos eran idénticos, con el fin de analizar la repetibilidad. Una parte significativa de los laboratorios obtuvo de 1 a varios resultados fuera de los límites aceptables (media ± 0,25 log₁₀ copias/ml), dependiendo del estándar y del método empleado, en promedio el 52,1% de los centros. La repetibilidad fue muy buena, y más del 94,9% de los laboratorios obtuvo resultados aceptables ($\Delta < 0,5 \log_{10}$ copias/ml). En los controles de VHC y VHB se remitieron 2 estándares con diferente contenido del virus. La mayor parte de los participantes, alrededor del 90% en el caso del VHC y del 86% en el del VHB, obtuvo ambos resultados dentro de los límites de la media ± 1,96 DE log₁₀ UI/ml.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la utilidad de los controles externos para asegurar la calidad de los resultados analíticos, incluyendo la fase postanalítica. Debido a la variabilidad interlaboratorio es aconsejable utilizar un mismo método y el mismo laboratorio en el seguimiento de los pacientes.

© 2012 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Analysis of the results of the HIV-1, HCV and HBV viral load of the SEIMC External Quality Control Program. Year 2011

ABSTRACT

Keywords:

HBV
HCV
HIV-1
Viral load
External quality control
Proficiency

Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and hepatitis B (HBV) and C virus (HCV) viral load determinations are among the most important markers in the follow-up of patients infected with these viruses. External quality control tools are crucial to ensure the accuracy of the results obtained by microbiology laboratories. This article summarizes the results of the 2011 SEIMC External Quality Control Program for HIV-1, HCV, and HBV viral loads.

In the HIV-1 program, a total of five standards were sent. One standard consisted of seronegative human plasma, while the remaining four contained plasma from three different viremic patients in the range of 2-5 log₁₀ copies/mL; to determine repeatability, two of these standards were identical. A significant proportion of the laboratories (52.1% on average) obtained values outside the accepted range (mean ± 0.25 log₁₀ copies/mL), depending on the standard and on the method used for quantification. Repeatability was

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: niormi@gmail.com (N. Orta Mira).

very good, with up to 94.9% of laboratories reporting results within the accepted range ($\Delta < 0.5 \log_{10}$ copies/mL). The HBV and HCV program consisted of two standards with different viral load contents. In most of the participating laboratories (90% in the case of HCV and 86% in that of HBV), all the results were within the accepted range (mean ± 1.96 SD \log_{10} UI/mL).

Data from this analysis reinforce the utility of proficiency programs to ensure the quality of the results obtained by a particular laboratory, as well as the importance of the post-analytical phase in overall quality. Due to the marked interlaboratory variability found, use of the same method and the same laboratory for patient follow-up is advisable.

© 2012 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La determinación cuantitativa de genoma (carga viral) de los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y de las hepatitis B (VHB) y C (VHC) constituye una de las funciones primordiales del laboratorio de microbiología molecular. Para ello, los laboratorios suelen utilizar sistemas comerciales, pero su eficacia diagnóstica es difícil de evaluar con la sola experiencia de cada centro. Desde hace 6 años (2006-2011), y con carácter anual, el Programa de Control de Calidad de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) dispone del control de calidad externo de carga viral del VIH-1 y del VHC, como un servicio directo a los profesionales que desarrollan su actividad en el laboratorio e, indirectamente, a los clínicos que atienden a los pacientes infectados por esos virus. Además, en 2009 se incorporó al control de carga viral del VHC la realización del genotipado y en el año 2010 el control de carga viral del VHB. En este artículo se resumen las principales conclusiones y enseñanzas derivadas del análisis conjunto de los resultados remitidos por los participantes.

Control de calidad del VIH-1

Características del material remitido

En el control de 2011 se remitió a los participantes 5 estándares de plasma congelado, denominados VIH-1/11 a VIH-5/11, que habían sido analizados y valorados para el contenido en ARN del VIH-1. Cuatro de ellos contenían cantidades conocidas de ARN y se obtuvieron de plasma procedente de 3 pacientes virémicos distintos, buscando contenidos teóricos dentro de un intervalo de 2-5 unidades logarítmicas. Los estándares VIH-2/11 y VIH-3/11 eran idénticos, y estaban destinados, además, a analizar la repetibilidad de los resultados intralaboratorio (repetitividad de resultados en un mismo momento y bajo las mismas condiciones). El estándar VIH-1/11 se preparó con plasma de un paciente seronegativo. Las muestras se analizaron en 3 laboratorios de referencia diferentes, por los métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) *real time* (PCR-RT) de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]), de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott) y de Siemens Diagnostics (VERSANT® kPCR) (tabla 1), que confirmaron los valores teóricos. La participación fue anónima y voluntaria.

Tabla 1

Control del virus de la inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1): resultados de los laboratorios de referencia para cada estándar y técnica

Estándar	PCR-RT Abbott (LR-A)		kPCR Siemens (LR-B)		PCR-RT TaqMan Roche (LR-C)	
	Copias/ml	Log ₁₀	Copias/ml	Log ₁₀	Copias/ml	Log ₁₀
VIH-1/11	< 40	–	< 37	–	< 20	–
VIH-2/11	1.025	3,01	2.859	3,46	26.800	4,43
VIH-3/11	908	2,96	3.150	3,50	29.900	4,48
VIH-4/11	469	2,67	277	2,44	2.081	3,32
VIH-5/11	173.770	5,24	278.282	5,44	574.245	5,76

LR: laboratorio de referencia; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; PCR-RT: PCR *real time*.

Una vez preparados los estándares se mantuvieron congelados a -80 °C hasta su envío a los participantes, que se realizó con nieve carbónica y asegurando entregas en menos de 24 h.

Criterios de evaluación

Para demostrar la especificidad de las determinaciones se contaba con el estándar VIH-1/11 como control negativo (plasma seronegativo). En este caso se consideraron válidos los resultados que se informaron por debajo del límite de detección de la técnica utilizada, por lo que cualquier cuantificación se consideraría un resultado falso positivo. Para los estándares VIH-2/11 y VIH-3/11 (plasmas idénticos) se tomó como medida central la media de los valores obtenidos en ambos por todos los participantes que utilizaban un mismo método. En todos los casos se eliminaron los valores extremos y aberrantes para el cálculo de la media¹. El criterio de aceptación se fijó en la media de los participantes para cada método $\pm 0,25 \log_{10}$. Estos estándares (VIH-2/11 y VIH-3/11) se utilizaron también para evaluar la repetibilidad de los resultados obtenidos por cada participante. En este caso se calculó el diferencial (Δ) entre ambos valores referidos por cada centro, expresados en unidades logarítmicas². Se consideró aceptable cuando $\Delta < 0,5 \log_{10}$ copias/ml, valor que tiene en cuenta tanto la variabilidad técnica²⁻⁷ como la biológica y que, en la práctica, es el que se utiliza en el seguimiento de los pacientes para considerar que se ha producido un cambio significativo de la carga viral con fines pronósticos, o para el control de la eficacia del tratamiento.

Resultados del control VIH-1

Se envió el material de control a 100 participantes, 2 más que el año anterior, de los que 94 remitieron respuesta (94%). El método más empleado fue la PCR-RT Taqman® de Roche (78,7%), seguido por el NASBA-RT Nuclisens® de bioMérieux (6,4%), la PCR-RT de Abbott (6,4%) y la kPCR® de Siemens (3,2%), mientras que el resto de participantes (5, el 5,3%) informó otras técnicas distintas. Como ya sucedía en otras ediciones del control de calidad de carga viral se constata el predominio de las técnicas de PCR-RT.

En la tabla 2 se resumen los resultados para cada método comercial. Desde el punto de vista de la especificidad, los resultados fueron muy buenos, ya que ningún participante detectó genoma de VIH-1

Tabla 2
Control del virus de la inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado

	Estándar				
	VIH-1/11	VIH-2/11	VIH-3/11	VIH-4/11	VIH-5/11
TaqMan® Roche					
Media log ₁₀ ^a	Indetectable	4,34	4,34	3,29	5,84
Límites aceptables ^b	Indetectable	4,09-4,59	4,09-4,59	3,04-3,54	5,59-6,09
Dentro de límites	74/74	55/74	57/74	64/74	61/74
PCR-RT Abbott					
Media log ₁₀ ^a	Indetectable	3,04	3,04	2,56	5,34
Límites aceptables ^b	Indetectable	2,79-3,29	2,79-3,29	2,31-2,81	5,09-5,59
Dentro de límites	6/6	3/6	4/6	6/6	6/6
Nuclisens®-RT bioMérieux					
Media log ₁₀ ^a	Indetectable	3,87	3,87	2,78	5,77
Límites aceptables ^b	Indetectable	3,62-4,12	3,62-4,12	2,53-3,03	5,52-6,02
Dentro de límites	6/6	1/6	0/6	4/6	4/6
Versant® kPCR Siemens					
Media log ₁₀ ^a	Indetectable	3,31	3,31	2,52	5,34
Límites aceptables ^b	Indetectable	3,06-3,56	3,06-3,56	2,27-2,77	5,09-5,59
Dentro de límites	3/3	1/3	0/3	3/3	3/3

^aSe calculó sobre cada método, excluyendo los valores aberrantes.^bMedia ± 0,25 log₁₀ copias/ml.

en el estándar negativo (VIH-1/11). Esta circunstancia contrasta con los datos de 2009, en que hubo 4 participantes que detectaron genoma del VIH-1 en dicho estándar. En cuanto a la variabilidad de los resultados, la mayor parte de los que se encuentran fuera del intervalo de aceptación se correspondió con los estándares VIH-2/11 y VIH-3/11. Asimismo, de la tabla 2 se puede deducir la existencia de una notable variabilidad intermétodo, que se confirma cuando se analizan los resultados individuales de los participantes (no se muestran), de modo que los valores obtenidos con el mismo estándar utilizando 2 métodos no son siempre comparables. Estos resultados, en su conjunto, son similares a los obtenidos en el programa SEIMC de otros años³⁻⁷.

En cuanto a los métodos de PCR-RT, el comercializado por Roche (Taqman®) obtiene un 15,9% de resultados fuera del límite de aceptación, el de bioMérieux el 50,0%, el de Abbott el 16,7% y el de Siemens un 33,3%, si bien hay que tomar estos 3 últimos datos con mucha cautela, pues el número de participantes que utilizaron estos métodos es muy bajo (de 3 a 6, dependiendo de la técnica). Por otro lado, todos los centros informaron bien al menos 1 estándar, y tan solo 2 centros acertaron únicamente con el estándar VIH-1/11 (control negativo). Por último, en ninguna ocasión se informaron resultados falsamente negativos.

En cuanto a los resultados del estudio de repetibilidad, la gran mayoría de los participantes (n = 94, 94,7%) obtuvo resultados reproducibles ($\Delta < 0,5 \log_{10}$). En el caso de los 5 centros que no superaron la prueba, no se puede relacionar con posibles errores de transcripción de datos en el formulario *web* (fase postanalítica), como ha sucedido en ediciones anteriores de este control. Cabe destacar que el porcentaje de centros que supera este estudio de repetibilidad es similar al de los últimos años.

Comentarios y conclusiones al control VIH-1

En términos generales, los resultados aquí presentados dan una idea de la variabilidad que se puede obtener en nuestros laboratorios en la práctica diaria con una prueba de indudable trascendencia como es la carga viral del VIH-1. Incluso eliminando los resultados

extremos y aberrantes, cuando se observa la variabilidad intermétodo, esta se aproxima, y en ocasiones las supera, a las 0,5 unidades logarítmicas, el valor límite usado en clínica para establecer un cambio significativo de carga viral, lo que refuerza la conveniencia de no cambiar de laboratorio en el seguimiento habitual de los pacientes.

Es importante señalar que, en torno al 18,7% de los resultados aportados por los participantes, se situó fuera del intervalo aceptable de $\pm 0,25 \log_{10}$ copias/ml alrededor de la media para cada técnica, aunque la mayor experiencia es con la técnica PCR-RT Roche. El resto de métodos se emplea por pocos centros, por lo que las conclusiones obtenidas a partir del análisis de sus datos deben ser tomadas con mucha cautela.

Como es habitual en este tipo de control, se introdujeron 2 muestras idénticas con el fin de evaluar la repetibilidad de los resultados de un determinado laboratorio. Los datos obtenidos son buenos, con un margen de error aceptable desde el punto de vista del seguimiento clínico de los pacientes infectados con el VIH-1.

Cuando se analiza la especificidad, los resultados generales son muy buenos, ya que no hubo resultados falsos positivos. Sin embargo, dada la trascendencia de esta prueba, está claro que los laboratorios están obligados a introducir actividades que minimicen este riesgo.

A modo de resumen, los datos aquí analizados pueden considerarse aceptables y coherentes con lo esperado, a pesar de algunas desviaciones, que muestran la posibilidad de obtener resultados erróneos en cualquier laboratorio, de ahí la necesidad de introducir acciones de control interno y externo que reduzcan la posibilidad de aparición de estos, entre ellas la participación en ejercicios de intercomparación externos²⁻¹⁰ como los representados por el Programa SEIMC.

Control de calidad del VHC

Características del material remitido

En el control de carga viral de VHC se remitieron 2 estándares de plasma congelado (VHC-1/11 y VHC-2/11) obtenidos de 2 pacientes

Tabla 3

Control del virus de la hepatitis C (VHC): resultados de los laboratorios de referencia para cada estándar y técnica

Estándar	PCR-RT Abbott (LR-A)		PCR-RT Taqman Roche (LR-B)	
	UI/ml	Log ₁₀	UI/ml	Log ₁₀
VHC-1/11	368.133	5,57	321.000	5,51
VHC-2/11	5.898	3,77	3.760	3,58

LR: laboratorio de referencia; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; PCR-RT: PCR *real time*.

distintos virémicos para el VHC, buscando unos contenidos aproximados en UI/ml preestablecidos. Una vez realizadas las alícuotas se conservaron a una temperatura de -80°C hasta el momento de su envío, que se hizo en nieve carbónica y con entregas inferiores a las 24 h. Ambos estándares habían sido analizados por 2 centros de referencia, cada uno de los cuales empleó un método comercial diferente, confirmándose los valores teóricos aproximados (tabla 3): PCR-RT de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]) y de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott). Desde el año 2009 también se solicita la realización del genotipado a todos los participantes que en sus centros dispongan de dicha técnica, en esta ocasión se tenía que realizar con el estándar VHC-1/11, el cual había sido informado por el laboratorio de referencia como VHC genotipo 2 mediante Abbott PCR-RT HCV.

Crterios de evaluación

Los 2 estándares se analizaron de forma cuantitativa (\log_{10} UI/ml) comparando los resultados individuales obtenidos por cada participante respecto al intervalo de confianza (IC) del 95% (media \pm 1,96 DE [desviación estándar]) de todos los que utilizaron su mismo método comercial^{11,12}. Al igual que con el control del VIH-1, para el cálculo de la media y de la DE se excluyeron los valores extremos y aberrantes¹.

Resultados del control VHC

En este control se remitieron muestras a 100 laboratorios (4 más que el año anterior), de los que 97 respondieron (97%). De ellos, 71 realizaron también el genotipado del virus, lo que supone el 71% del total de participantes inscritos. La técnica utilizada mayoritariamente por los participantes fue la amplificación por PCR-RT, especialmente con el sistema comercial Taqman® de Roche (78 centros, el 80,4%). Trece participantes (13,4%) utilizaron la PCR-RT de Abbott, 3 el b-DNA de Siemens (3,1%), el resto (3 centros) informaron una PCR-RT de Qiagen Diagnostics y 2 PCR *in house* de desarrollo propio. Como ya sucedió el año anterior, ningún centro utilizó el sistema Cobas Amplificor® de Roche.

La tabla 4 resume los datos para el total de participantes. La variabilidad fue similar en términos de desviación respecto a la media para ambos estándares. Del total de resultados informados, se encontraba dentro del intervalo de aceptación el 89,7%. Cabe destacar que 5 centros obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable. En general, una vez eliminados los resultados aberrantes, estos fueron buenos.

La tabla 5 resume los resultados comparados por cada una de las técnicas con la media de los que usan su misma técnica aunque, dado el bajo número de participantes para algunas de ellas (PCR-RT Abbott, bDNA Siemens), estos resultados deben tomarse con prudencia. En general, los valores obtenidos quedaban comprendidos dentro del margen aceptable (IC del 95% de la media de los participantes por cada técnica) y la mayoría de los valores anómalos se obtuvo con la técnica de PCR-RT Taqman® Roche, ya que fue la más ampliamente

Tabla 4

Control del virus de la hepatitis C (VHC): resultados comparados sobre el total de participantes, con independencia de la técnica utilizada*

	Estándar	
	VHC-1/11	VHC-2/11
Media log ₁₀	5,43	3,54
Media log ₁₀ \pm 1,96 DE	4,96-5,91	3,11-3,97
Dentro de límites	89/97	90/97

DE: desviación estándar.

*Expresados en \log_{10} UI/ml.**Tabla 5**Control del virus de la hepatitis C (VHC): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado^a

	Estándar	
	VHC-1/11	VHC-2/11
TaqMan® Roche		
Media log ₁₀	5,42	3,51
Límites aceptables ^b	5,00-5,84	3,15-3,87
Dentro de límites	68/78	70/78
PCR-RT Abbott		
Media log ₁₀	5,65	3,75
Límites aceptables ^b	5,25-6,05	3,51-3,99
Dentro de límites	11/13	12/13
bDNA Versant® Siemens		
Media log ₁₀	5,31	3,52
Límites aceptables ^b	5,03-5,60	3,24-3,80
Dentro de límites	3/3	3/3

^aExpresado en \log_{10} UI/ml.^bMedia \pm 1,96 DE.

utilizada (78 participantes). Es por esto por lo que las conclusiones que de ella se derivan son las más firmes. Mediante esta técnica, un total de 18 resultados de 156 (11,5%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 8 se obtuvieron con el estándar VHC-1/11 y 7 con el VHC-2/11, detectándose carga viral en todas las 156 determinaciones realizadas con esta técnica.

En cuanto al resto de métodos, resaltar que el sistema PCR-RT de Abbott presenta el 88,5% de sus valores dentro del intervalo de aceptación y que de los 3 resultados fuera de este 2 de ellos se corresponden con el estándar VHC-1/11 y el restante con el VHC-2/11. En cuanto al método bDNA de Siemens, todos los valores informados se encuentran dentro del intervalo de aceptación (100,0%), aunque esta técnica solo fue empleada por 3 centros.

Aunque no es posible hacer un análisis estadístico de correlación de valores, las medias obtenidas con los diferentes métodos son bastante homogéneas y, en conjunto, podríamos decir que los métodos son razonablemente comparables entre sí.

De los 97 participantes que contestaron al control, 71 realizaron el genotipado del VHC (73,2%). El 60,6% de estos informó un genotipo 2a/2c, el 31,0% lo informó como 2, coincidente con el valor aportado por el laboratorio de referencia, el 4,2% lo informó como indeterminado y el 4,2% restante informó otros genotipos distintos (uno genotipo 3, otro 3a y el otro 1). El método que se utilizó de forma mayoritaria por los centros participantes fue la hibridación inversa, seguido de la PCR-RT y de la secuenciación. La marca comercial más empleada fue Siemens, que dispone de reactivos, tanto para la realización de una hibridación inversa como para una secuenciación.

Tabla 6

Análisis de los resultados del genotipado del virus de la hepatitis C (estándar VHC-1/11)

Método	Marca	Genotipo 2 ^a	Genotipo 2a/2c ^a	Indeterminado ^a	Otros ^a	Total ^b
Hibridación inversa	INNOLiPA HCV (Siemens)	5 (11,6)	37 (86,0)	—	1 (2,3)	43 (60,6)
	Linear array HCV (Roche)	9 (81,8)	—	—	2 (18,2)	11 (15,5)
PCR-RT	Abbott RT HCV	4 (57,1)	—	3 (42,9)	—	7 (9,9)
	No informa	1 (100,0)	—	—	—	1 (1,4)
Secuenciación	Trugene (Siemens)	1 (100,0)	—	—	—	1 (1,4)
	Desarrollo propio	1 (100,0)	—	—	—	1 (1,4)
RFLP	Desarrollo propio	1 (100,0)	—	—	—	1 (1,4)
Total	—	22 (31,0)	43 (60,6)	3 (4,2)	3 (4,2)	71 (100,0)

RFLP: polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción.

^aEntre paréntesis, % respecto a los centros que realizan su mismo método y marca.^bEntre paréntesis, % respecto al total de centros participantes.

Cabe destacar que todos los centros que utilizaron los reactivos de PCR-RT de Abbott, la hibridación inversa de Roche y métodos de desarrollo propio informaron el genotipo como 2 y que casi todos los que realizaron la hibridación inversa de Siemens lo informaron como genotipo 2a/2c (tabla 6).

Comentarios y conclusiones al control VHC

Desde el punto de vista de valoración general de los resultados, los aquí presentados deben ser considerados como aceptables y coherentes con lo esperado. La mayor parte de los participantes incluye sus resultados individuales dentro del intervalo de aceptación (IC del 95%). Se puede argumentar que, tal vez, los criterios establecidos por el Programa han sido demasiado permisivos, si bien hay que señalar que la DE ha sido < 0,5 unidades logarítmicas para ambos estándares, cifra que se puede considerar aceptable desde el punto de vista del seguimiento clínico^{13,14}, más teniendo en cuenta que se trata de variabilidad interlaboratorio. Por lo que se refiere al análisis por técnicas comerciales, no es posible obtener datos concluyentes, debido a la utilización mayoritaria de un determinado método.

Control de calidad del VHB

Características del material remitido

En el control de carga viral del VHB se remitieron 2 estándares de plasma congelado (VHB-1/11 y VHB-2/11) obtenidos de 2 pacientes distintos víremicos para el VHB, buscando unos contenidos aproximados en UI/ml preestablecidos. Una vez realizadas las alícuotas se conservaron a una temperatura de -80 °C hasta el momento de su envío, que se hizo en nieve carbónica y con entregas inferiores a las 24 h. Ambos estándares habían sido analizados por 3 centros de referencia, cada uno de los cuales empleó un método comercial diferente, confirmándose los valores teóricos aproximados (tabla 7): PCR-RT de Roche Diagnostics (Taqman® [PCR-RT Roche]) y de Abbott Diagnostics (PCR-RT Abbott).

Criterios de evaluación

Los 2 estándares se analizaron de forma cuantitativa (log₁₀ UI/ml) comparando los resultados individuales obtenidos por cada participante respecto al IC del 95% (media ± 1,96 DE) de todos los que utilizaron su mismo método comercial^{11,12}. Al igual que con el control del VIH-1 y del VHC, para el cálculo de la media y de la DE se excluyeron los valores extremos y aberrantes¹.

Tabla 7

Control del virus de la hepatitis B (VHB): resultados de los laboratorios de referencia para cada estándar y técnica

Estándar	PCR-RT Abbott (LR-A)		PCR-RT Taqman Roche (LR-B)	
	UI/ml	Log ₁₀	UI/ml	Log ₁₀
VHB-1/11	642	2,81	1.060	3,03
VHB-2/11	2.922.041	6,47	1.550.000	6,19

LR: laboratorio de referencia; PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *real time*.

Resultados del control VHB

En este control se remitieron muestras a 80 laboratorios, de los que 75 respondieron (93,7%). Como sucede con otros tipos de controles de carga viral (VIH y VHC), el método informado por la gran mayoría de los participantes fue la PCR-RT por el sistema Cobas Taqman® de Roche (57 centros, el 76,0%), seguida a distancia por la PCR-RT de Abbott (11 participantes, 14,7%) y el sistema Versant® bDNA de Siemens (3 centros, 4,0%); el resto (5,3%) empleó en 2 ocasiones PCR de desarrollo propio, en una la PCR-RT de Affigene y en la otra la PCR-RT de Qiagen Diagnostics.

La tabla 8 resume los datos para el total de participantes. La variabilidad fue similar en términos de desviación respecto a la media para ambos estándares. Del total de resultados informados se encontraba dentro del intervalo de aceptación alrededor del 90%. Cabe destacar que 5 centros obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable. En general, una vez eliminados los resultados aberrantes, estos fueron buenos.

Tabla 8

Control del virus de la hepatitis B (VHB): resultados comparados sobre el total de participantes, con independencia de la técnica utilizada*

	Estándar	
	VHB-1/11	VHB-2/11
Media log ₁₀	3,05	6,21
Media log ₁₀ ± 1,96 DE	2,57-3,52	5,83-6,59
Dentro de límites	67/75	69/75

DE: desviación estándar.

*Expresados en log₁₀ UI/ml.

Tabla 9Control del virus de la hepatitis B (VHB): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado^a

	Estándar	
	VHB-1/11	VHB-2/11
TaqMan® Roche		
Media log ₁₀	3,07	6,22
Límites aceptables ^b	2,69-3,45	5,92-6,52
Dentro de límites	50/57	53/57
PCR-RT Abbott		
Media log ₁₀	2,92	6,23
Límites aceptables ^b	2,39-2,45	5,83-6,62
Dentro de límites	11/11	10/11
bDNA Versant® Siemens		
Media log ₁₀	3,21	6,34
Límites aceptables ^b	2,99-3,43	6,23-6,46
Dentro de límites	3/3	3/3

^aExpresado en log₁₀ UI/ml.^bMedia ± 1,96 DE

La tabla 9 resume los resultados comparados por cada una de las técnicas con la media de los que usan su misma técnica aunque, dado el bajo número de participantes para algunas (PCR-RT Abbott, PCR-RT bioMérieux, bDNA Siemens), estos resultados deben tomarse con prudencia. En general, los valores obtenidos quedaban comprendidos dentro del margen aceptable (IC del 95% de la media de los participantes por cada técnica), y la práctica totalidad de los valores anómalos se obtuvo con la técnica de PCR-RT Taqman® Roche, ya que fue la más ampliamente utilizada (57 participantes). Es por esto por lo que las conclusiones que de ella se derivan son las más consistentes. Mediante esta técnica, un total de 11 resultados de 114 (9,6%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 7 se obtuvieron con el estándar VHB-1/11 y 4 con el VHB-2/11, detectándose carga viral en todas las ocasiones.

En cuanto al sistema de PCR-RT de Abbott, todos los valores informados se encuentran dentro del IC, con excepción de 1, y los 3 participantes que usan bDNA de Siemens presentan todos sus valores dentro de dicho intervalo; aun así, estos datos deben evaluarse con prudencia, pues se dispone de pocos centros para poder extraer conclusiones, especialmente en el caso de bDNA (Siemens).

Como ya sucedía con la carga viral del VHC, aunque no es posible hacer un análisis estadístico de correlación de valores, las medias obtenidas con los diferentes métodos son bastante homogéneas y, en conjunto, podríamos decir que los métodos son razonablemente comparables entre sí.

Comentarios y conclusiones al control VHB

Desde el punto de vista de valoración general de los resultados, los aquí presentados se deben considerar como aceptables y coherentes con lo esperado. La mayor parte de los participantes incluye sus resultados individuales dentro del intervalo de aceptación (IC del 95%). No obstante, es importante que los laboratorios, de forma indi-

vidual, mantengan un alto grado de vigilancia sobre la calidad de sus resultados en el día a día y, en caso necesario, introduzcan las medidas correctoras oportunas. Por lo que se refiere al análisis por técnicas comerciales, no es posible obtener datos concluyentes, debido a la utilización mayoritaria de un determinado método.

Agradecimientos

El Programa de Control de Calidad SEIMC agradece la colaboración en el proceso de caracterización del material de control a las siguientes personas: Dr. José Luis Pérez y Dra. Ana Mena, del Servicio de Microbiología del Hospital Son Espases de Palma de Mallorca, a la Dra. M. Dolores Ocete, del Servicio de Microbiología del Consorcio-Hospital General Universitario de Valencia, y a los Dres. Roberto Roig, José Villalba y Manuel Álvarez, del Centro de Transfusiones de la Comunidad Valenciana.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Bevington PR, Robinson DK. Data reduction and error analysis for the physical sciences. 3rd ed. Boston: McGraw-Hill; 2003.
- Niesters HGM. QCMD 2005 human immunodeficiency virus type 1 (HIVRNA05) proficiency programme. Final report. Glasgow: Quality Control for Molecular Diagnostics, 2005. Disponible en: www.qcmd.org
- Orta N, Guna MR, Latorre JC, Pérez JL, Gimeno C. Análisis de resultados del Programa de Control de Calidad Externo de Carga Viral del VIH-1 y del VHC. Año 2006. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25 Supl 3:8-13.
- Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Pérez JL, Gimeno Cardona C. Análisis de resultados del Programa Externo de Control de Calidad SEIMC de carga viral del VIH-1 y del VHC. Año 2007. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26 Supl 3:8-13.
- Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Pérez JL, Gimeno Cardona C. Análisis de resultados del Programa Externo de Control de Calidad SEIMC de carga viral del VIH-1 y del VHC. Año 2008. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;28 Supl 1:7-11.
- Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Ovie MR, Poveda M, Ruiz de Gopegui E, et al. Análisis de resultados del Programa de Control de Calidad Externo SEIMC de carga viral del VIH-1 y del VHC. Año 2009. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29 Supl 3:8-13.
- Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Ovie MR, Poveda M, Ruiz de Gopegui E, et al. Análisis de resultados del Programa de Control de Calidad Externo SEIMC de carga viral del VIH-1 y del VHC. Año 2010. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29 Supl 5:8-14.
- Best SJ, Gust AP, Johnson EJM, McGavin CH, Dax EM. Quality of human virus viral load testing in Australia. *J Clin Microbiol.* 2000;38:4015-20.
- Brambilla DJ, Granger S, Jennings C, Bremer JW. Multisite comparison of reproducibility and recovery from the standard and ultrasensitive Roche Amplicor HIV Monitor assays. *J Clin Microbiol.* 2001;29:1221-3.
- Muyldermans G, Debaisieux L, Fransen K, Marissens D, Miller K, Vaira D, et al. Blinded, multicenter quality control study for the quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma by the Belgian AIDS reference laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 2000;6:213-7.
- Niesters HGM. QCMD 2005 hepatitis C virus (HCVRNA05) proficiency programme. Final report. Glasgow: Quality Control for Molecular Diagnostics, 2005. Disponible en: www.qcmd.org
- Gentili G, Cristiano K, Pisani G, Bisso GM, Miceli M, Wirz M, et al. Collaborative study for the calibration of a new Italian HCV RNA reference preparation against the international standard. *Ann Ist Super Sanità.* 2003;39:183-7.
- Fanning L, Kenny-Walsh E, Levis J, Choudhury KR, Cannon B, Sheehan M, et al. Natural fluctuations of hepatitis C virus load in a homogeneous patient population: a prospective study. *Hepatology.* 2000;35:225-9.
- Martínez-Bauer E, Crespo J, Romero-Gómez M, Moreno-Otero R, Sola R, Tesi N, et al. Development and validation of two models for early prediction of response to therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2006;43:72-80.