

CONTROL DE CALIDAD DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR (BM-1/13 y BM-2/13)

En el presente control, se envió a los distintos laboratorios participantes dos muestras diferentes de plasma congelado. Se solicitó a los participantes que procesaran las muestras de plasma para la realización de la carga viral y/o detección cualitativa del **genoma del virus de Epstein-Barr (VEB)** mediante PCR, así como que formularan los comentarios que considerasen oportunos.

El laboratorio que actuó como centro de referencia informó en ambas muestras de la carga viral del VEB, realizando una PCR *real-time* con el reactivo comercial Simplexa® EBV kit (de Focus Diagnostics).

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS DE LA DETECCIÓN DEL GENOMA DEL VEB

Las dos muestras de plasma fueron enviadas a 87 laboratorios de los que 68 (78,2%) remitieron hoja de respuesta. De ellos, cinco centros informaron que en su laboratorio no se realizaba esta determinación, por lo que en realidad fueron 63 los centros que aportaron resultados valorables, siendo el porcentaje de participación real del 72,4%. Este porcentaje es inferior al del control de Microbiología Molecular del 2012 (84,1%), en dicho control se solicitó la detección del genoma de Citomegalovirus en plasma.

La detección del genoma del VEB, en las dos muestras de plasma remitidas, resultó positiva en todos los 63 centros que emitieron hoja de respuesta con datos analizables (100,0%), resultados concordantes con el del centro de referencia.

De los 63 participantes que realizaron la detección del DNA del VEB en ambas alícuotas de plasma, 55 emplearon una PCR a tiempo real (87,4%), otros 4 (6,3%) una PCR convencional, mientras que los 4 restantes realizaron una PCR seguida de *microarray* (6,3%). Respecto a la PCR a tiempo real, las marcas comerciales más empleadas fueron el equipo SmartCycler de Cepheid (utilizado por 14 centros, agrupando los reactivos Smart de Cepheid y RealCycler de Progenie) y el RealStar de Altona Diagnostics. La totalidad de métodos y marcas empleadas se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Métodos y marcas utilizados en la detección de genoma del virus de Epstein-Barr

Método	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)
PCR <i>real-time</i>	RealCycler (Progenie)	9 (14,3)	9 (100,0)
	RealStar (Altona)	9 (14,3)	9 (100,0)
	Argene (bioMérieux)	7 (11,2)	7 (100,0)
	Abbott	6 (9,5)	6 (100,0)
	Roche	5 (7,9)	5 (100,0)
	Smart (Cepheid)	5 (7,9)	5 (100,0)
	LightCycler (Roche)	2 (3,2)	2 (100,0)
	Nanogen	2 (3,2)	2 (100,0)
	AB Analítica	1 (1,6)	1 (100,0)
	Diagenode (Palex)	1 (1,6)	1 (100,0)
	Siemens	1 (1,6)	1 (100,0)
	Simplexa (Focus)	1 (1,6)	1 (100,0)
	Vitro	1 (1,6)	1 (100,0)
	Desarrollo propio	4 (6,3)	4 (100,0)
No informada	1 (1,6)	1 (100,0)	
PCR	Desarrollo propio	4 (6,3)	4 (100,0)
<i>Microarray</i>	CLART (Genómica)	4 (6,3)	4 (100,0)
Total		63 (100,0)	63 (100,0)

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS CUANTITATIVOS DE LA DETECCIÓN DEL GENOMA DEL VIRUS DE EPSTEIN-BARR EN LA PRIMERA MUESTRA DE PLASMA

El laboratorio que actuó como referencia determinó la carga viral del VEB en siete alícuotas de la primera muestra de plasma mediante los reactivos Simplexa® (Focus Diagnostics). La carga viral del VEB osciló de 224.839 a 105.487 copias/mL, con una media de 130.918 copias/mL ($5,117 \pm 0,115$ log) y un coeficiente de variación (CV) del 2,2%.

De los 63 centros que realizaron la detección del genoma del VEB en la primera muestra de plasma, 43 informaron de una cifra de la carga viral. En la tabla 2, se muestra el valor más bajo y más alto de la carga viral aportado por los diferentes centros. Como se puede observar, existe una amplia variabilidad de la cifra de carga viral, tanto entre diferentes técnicas, así como dentro de la misma marca comercial. La mayoría de los centros informaron de la carga viral en copias/mL, aunque algunos no lo especificaron y otros lo hicieron en UI/mL, lo que ha complicado bastante el análisis conjunto de los datos.

Tabla 2. Cuantificación de la carga viral de VEB en la primera muestra de plasma

Marca comercial	Nº de centros que informan la carga viral	Muestra 1	
		Valor inferior (copias/mL) ^a	Valor superior (copias/mL) ^a
RealStar (Altona)	9	78.300	4.560.592 (UI/mL)
Argene (bioMérieux)	7	65.600	89.000.000
Abbott	6	1.396.939	4.599.841
Roche	4	249.000	1.750.000
Smart (Cepheid)	5	479.108	3.616.896
LightCycler (Roche)	2	550.000	818.000
Nanogen	1	225.237	-
AB Analítica	1	2.000.000	-
Diagenode (Palex)	1	241.565	-
Simplexa (Focus)	1	157.762	-
Vitro	1	207.562	-
Desarrollo propio	4	500.000	4.400.000 (UI/mL)
No informada	1	122.857	-

^aLa mayoría de los centros informan la carga viral del VEB en copias/mL. Cuando la cifra de la carga viral se ha informado en UI/mL, se muestra este dato entre paréntesis.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS CUANTITATIVOS DE LA DETECCIÓN DEL GENOMA DEL VIRUS DE EPSTEIN-BARR EN LA SEGUNDA MUESTRA DE PLASMA

Del mismo modo que en la muestra anterior, el laboratorio que actuó como referencia determinó la carga viral del VEB en siete alícuotas de la segunda muestra de plasma, utilizando los mismos reactivos comerciales. La carga viral del VEB osciló de 7.638 a 4.593 copias/mL, con una media de 5.176 copias/mL ($3,714 \pm 0,079$ log) y un CV del 2,13%.

En la tabla 3, se muestra el valor más bajo y más alto de la carga viral aportado por los 43 centros que aportaron información de la carga viral.

Tabla 3. Cuantificación de la carga viral de VEB en la segunda muestra de plasma

Marca comercial	Nº de centros que informan la carga viral	Muestra 1	
		Valor inferior (copias/mL) ^a	Valor superior (copias/mL) ^a
RealStar (Altona)	9	43.860 (UI/mL)	146.000 (UI/mL)
Argene (bioMérieux)	7	12.000	3.000.000
Abbott	6	94.772	232.272
Roche	4	13.000	88.900
Smart (Cepheid)	5	17.859	335.814
LightCycler (Roche)	2	20.300	39.000
Nanogen	1	14.002	-
AB Analítica	1	108.000	-
Diagenode (Palex)	1	14.625	-
Simplexa (Focus)	1	4.702	-
Vitro	1	6.380	-
Desarrollo propio	4	29.000 (UI/mL)	230.000
No informada	1	5.303	-

^aLa mayoría de los centros informan la carga viral del VEB en copias/mL. Cuando la cifra de la carga viral se ha informado en UI/mL, se muestra este dato entre paréntesis.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo de referencia para la realización de la prueba solicitada, de los 63 centros que realizaron esta técnica, 57 (90,5%) afirmaron no haberlo utilizado, mientras que los 6 laboratorios restantes indicaron que sí lo habían empleado (9,5%).

COMENTARIOS

Probablemente al no existir historia clínica acompañante a la carga viral, muy pocos centros han realizado algún comentario. Dos centros que realizaron una PCR a tiempo real cualitativa mencionaron que la muestra 1 poseía una carga viral de VEB mayor que la muestra 2, ya que el Ct de positividad de la muestra 1 era inferior al de la muestra 2. Un centró comentó que debido a la alta carga que presentaba el standard 1/13, se había inhibido parcialmente el control interno.