



# 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 2012

María del Remedio Guna Serrano<sup>a,b</sup>, Nieves Orta Mira<sup>a,b,\*</sup>, José-Carlos Latorre Martínez<sup>a</sup>, María Rosario Ovies<sup>a</sup>, Marta Poveda<sup>a</sup>, Enrique Ruiz de Gopegui<sup>a,c</sup> y Concepción Gimeno Cardona<sup>a,b,d</sup>

<sup>a</sup>Programa de Control de Calidad Externo SEIMC

<sup>b</sup>Servicio de Microbiología, Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, Valencia, España

<sup>c</sup>Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, España

<sup>d</sup>Servicio 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 disponen de herramientas que garantizan la fiabilidad de sus resultados; entre ellas se encuentran los programas de intercomparación externos, como el Programa de Control de Calidad de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). En el presente número se muestra el análisis de resultados del Programa de Control de Calidad SEIMC de carga viral de estos virus, incluyendo el genotipado del VHC, realizado durante el año 2012.

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 de entre 2-5 log<sub>10</sub> copias/ml; 2 de ellos eran idénticos, con el fin de analizar la repetibilidad. Una parte significativa de los laboratorios obtuvo de uno a varios resultados fuera de los límites aceptables (media ± 0,25 log<sub>10</sub> copias/ml), dependiendo del estándar y del método empleado, en promedio el 22,3% de los centros. La repetibilidad fue excelente y más del 98,9% 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 84% en el caso del VHC y del 88% en el del VHB, obtuvo ambos resultados dentro de los límites de la media ± 1,96 DE log<sub>10</sub> 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.

© 2014 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Analysis of the results of the HIV-1, HCV and HBV viral load of SEIMC External Quality Control Program. Year 2012

#### 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 relevant markers for the follow up of patients infected with these viruses. External quality control tools are crucial to ensure the accuracy of results obtained by microbiology laboratories. This article summarized the results obtained from the 2012 SEIMC External Quality Control Programme for HIV-1, HCV, and HBV viral loads.

In the HIV-1 program, a total of five standards were sent. One standard consisted in seronegative human plasma, while the remaining four contained plasma from three different viremic patients, in the range of 2-5 log<sub>10</sub> copies/mL; two of these standards were identical aiming to determine repeatability. A significant proportion of the laboratories (22.3% on average) obtained values out of the accepted range (mean ± 0.25 log<sub>10</sub> 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).

excellent, with up to 98.9% of laboratories reporting results within the limits ( $\Delta < 0.5 \log_{10}$  copias/mL). The HBV and HCV program consisted of two standards with different viral load contents. Most of the participants, 84% in the case of HCV and 88% in the HBV, obtained all the results within the accepted range (mean  $\pm 1.96$  SD  $\log_{10}$  UI/mL).

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

© 2014 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. 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 de los virus VIH-1, VHC y VHB, 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, el control de carga viral del VHC incluye la realización del genotipado de este. 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 del año 2012 se remitió a los participantes 5 estándares de plasma congelado, denominados VIH-1/12 a VIH-5/12, que habían sido analizados y valorados para el contenido en ARN del VIH-1. Cuatro de ellos contenían cantidades conocidas de ARN y fueron obtenidos de plasma procedente de 3 pacientes virémicos distintos, buscando contenidos teóricos dentro de un intervalo de 2-5 unidades logarítmicas. Los estándares VIH-2/12 y VIH-3/12 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-5/12 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 *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.

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-5/12 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-2/12 y VIH-3/12 (plasmas idénticos) se tomó como medida central la media de los valores obtenidos

**Tabla 1**

Control del virus de la inmunodeficiencia humana (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 <sub>10</sub>	Copias/ml	Log <sub>10</sub>	Copias/ml	Log <sub>10</sub>
VIH-1/12	221	2,34	655	2,82	1.700	3,23
VIH-2/12	45.178	4,65	59.200	4,77	55.400	4,74
VIH-3/12	37.586	4,58	48.860	4,69	66.800	4,82
VIH-4/12	777	2,89	575	2,77	613	2,79
VIH-5/12	< 40	-	< 37	-	< 20	-

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

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 media<sup>1</sup>. El criterio de aceptación se fijó en la media de los participantes para cada método  $\pm 0,25 \log_{10}$ . Estos estándares (VIH-2/12 y VIH-3/12) se utilizaron también para evaluar la repetibilidad de los resultados obtenidos por cada participante. En este caso se calculó el diferencial ( $\Delta$ ) entre ambos valores referidos por cada centro, expresados en unidades logarítmicas<sup>2</sup>. Se consideró aceptable cuando  $D < 0,5 \log_{10}$  copias/ml, valor que tiene en cuenta tanto la variabilidad técnica<sup>2-8</sup> 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 103 participantes, 3 más que el año anterior, de los que 94 remitieron respuesta (91,3%). El método más empleado fue la PCR-RT Taqman® de Roche (83,0%), seguido por la kPCR® de Siemens (6,4%), el NASBA-RT Nuclisens® de bioMérieux (4,2%) y la PCR-RT de Abbott (4,2%), mientras que el resto de participantes (2, el 2,1%) informaron otras técnicas distintas (PCR-RT de Qiagen y PCR-RT *in house*). En esta edición del control de carga viral, todos los centros participantes informaron 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 podrían ser mejorables, ya que 3 participantes detectaron genoma de VIH-1 en el estándar negativo (VIH-5/12), uno de ellos en relación con un posible error de fase pre o postanalítica y los otros 2 por una posible contaminación de la muestra. Esta circunstancia contrasta con los datos del año anterior, donde ningún centro detectó 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 correspondieron con el estándar VIH-4/12. Asimismo, de la tabla 2 se puede deducir la existencia de una notable variabilidad intermétodo, que se confirma cuando se analizan los resultados

**Tabla 2**

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

	Estándar				
	VIH-1/12	VIH-2/12	VIH-3/12	VIH-4/12	VIH-5/12
<b>TaqMan® Roche</b>					
Media log <sub>10</sub> <sup>a</sup>	3,25	4,71	4,71	2,89	Indetectable
Límites aceptables <sup>b</sup>	3,00-3,50	4,46-4,96	4,46-4,96	2,64-3,14	Indetectable
Dentro de límites	74/77 <sup>c</sup>	75/78	75/78	64/78	76/78
<b>Versant® kPCR Siemens</b>					
Media log <sub>10</sub> <sup>a</sup>	2,63	4,70	4,70	2,63	Indetectable
Límites aceptables <sup>b</sup>	2,38-2,68	4,45-4,95	4,45-4,95	2,38-2,88	Indetectable
Dentro de límites	6/6	6/6	6/6	5/6	6/6
<b>Nuclisens®-RT bioMérieux</b>					
Media log <sub>10</sub> <sup>a</sup>	2,70	4,54	4,54	2,72	Indetectable
Límites aceptables <sup>b</sup>	2,45-2,95	4,29-4,79	4,29-4,79	2,47-2,97	Indetectable
Dentro de límites	4/4	2/4	1/4	4/4	4/4
<b>PCR-RT Abbott</b>					
Media log <sub>10</sub> <sup>a</sup>	2,36	4,69	4,69	2,73	Indetectable
Límites aceptables <sup>b</sup>	2,11-2,61	4,44-4,94	4,44-4,94	2,48-2,98	Indetectable
Dentro de límites	3/4	3/3	3/3	3/3	3/4

<sup>a</sup>Se calculó sobre cada método, excluyendo los valores aberrantes.<sup>b</sup>Media  $\pm$  0,25 log<sub>10</sub> copias/ml.<sup>c</sup>Para este estándar el número total fue de 77 en vez de 78, porque un centro no realizó la determinación por no disponer de suficiente muestra (volumen 1,5 ml/vial).

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 años<sup>3-8</sup>.

En cuanto a los métodos de PCR-RT, el comercializado por Roche (Taqman®) obtiene un 6,9% de resultados fuera del límite de aceptación, el de Siemens un 3,3%, el de bioMérieux un 15,0% y el de Abbott un 10,0%, 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 4 a 6, dependiendo de la técnica). Por otro lado, todos los centros informaron bien al menos un estándar, tan solo un centro tenía 4 de los 5 estándares fuera de rango, fallando la mayoría de los centros tan solo en 1 de los estándares. Por último, en una ocasión se detecta un resultado falsamente negativo, que el programa de control de calidad relaciona con un posible error al transcribir los datos en la página web (fase postanalítica) o en la identificación de los estándares (fase preanalítica).

En cuanto a los resultados del estudio de repetibilidad, la gran mayoría de los participantes (n = 93; 98,9%) obtuvo resultados reproducibles ( $D < 0,5 \log_{10}$ ). En el caso del centro que no superó la prueba, se trata del mismo centro que informa un resultado falsamente positivo y uno falso negativo, por lo que la hipótesis de un posible error de transcripción de datos (fase postanalítica) o de identificación de las muestras (fase preanalítica) gana fuerza. Cabe destacar que el porcentaje de centros que supera este estudio de repetibilidad es ligeramente superior 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 y 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 la supera, a las 0,5 unidades logarítmicas, el valor límite usado en clínica para establecer un cam-

bio 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 el porcentaje de valores que se sitúa fuera del intervalo de aceptación de  $\pm 0,25 \log_{10}$  copias/ml alrededor de la media para cada técnica fue ligeramente inferior al de otros años, aunque la mayor experiencia se obtiene con la técnica PCR-RT Roche. El resto de métodos son empleados por pocos centros, por lo que las conclusiones obtenidas a partir del análisis de sus datos se deben tomar 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 muy buenos, destacando que en el único centro que no supera la prueba, no parece que la causa se encuentre en un error de la fase analítica, sino en la fase pre o postanalítica.

Cuando se analiza la especificidad, los resultados generales son mejorables, ya que no hubo 3 resultados falsos positivos (tratándose 2 de ellos de errores de fase analítica). 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 controles interno y externo que reduzcan la posibilidad de aparición de estos, entre ellas, la participación en ejercicios de intercomparación externos<sup>2-11</sup>, 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-1/12 y VHC-2/12) obtenidos de 2 pacientes distintos virémicos para el VHC, buscando unos contenidos aproxi-

mados en UI/ml preestablecidos. Una vez realizadas las alícuotas se conservaron a una temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  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-1/12, el cual había sido informado por el laboratorio de referencia como VHC genotipo 1a mediante Abbott PCRRT HCV.

#### Criterios 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 desviaciones estándar [DE]) de todos los que utilizaron su mismo método comercial<sup>12,13</sup>. 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 aberrantes<sup>1</sup>.

#### Resultados del control VHC

En este control se remitieron muestras a 102 laboratorios (2 más que el año anterior), de los que 96 respondieron (94,1%). De ellos, 71 realizaron también el genotipado del virus, lo que supone el 73,9% del total de participantes que enviaron hoja de respuesta. La técnica utilizada mayoritariamente por los participantes fue la amplificación por PCR-RT, especialmente con el sistema comercial Taqman® de Roche (82 centros, el 85,4%). Nueve participantes (9,4%) utilizaron la PCR-RT de Abbott, 2 el bDNA de Siemens (2,1%), otros 2 (2,1%) PCR-RT de Qiagen Diagnostics y 1 PCR *in house* (PCR de desarrollo propio).

La tabla 4 resume los datos para el total de participantes. La variabilidad fue algo mayor en términos de desviación respecto a la media para el estándar VHC-2/12, que era el estándar que presentaba una menor carga viral. Del total de resultados informados, el 90,6% se encontraba dentro del intervalo de aceptación. Cabe destacar que 4 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), 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 obtuvieron con la técnica de PCR-RT Taqman® de Roche, ya que fue la más ampliamente utilizada (82 participantes). Es por esto por lo que las conclusiones que de ella se derivan son las más consistentes. Mediante esta técnica, un total de 12 resultados de 163 (un centro no analizó el estándar VHC-2/12 por disponer de escasa muestra), el 7,4%, quedó fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 6 se obtuvieron con el estándar VHC-1/12 y los otros 6 con el VHC-2/12, detectándose carga viral en todas las ocasiones en que se empleó esta técnica.

En cuanto al resto de métodos, resaltar que el sistema PCR-RT de Abbott presenta el 88,9% de sus valores dentro del intervalo de aceptación, y que los 2 resultados fuera de este se corresponden uno con el estándar VHC-1/12 y el otro con el VHC-2/12 (este último se corresponde con un resultado falsamente negativo).

No se muestran los datos de los métodos bDNA de Siemens y PCR-RT de Qiagen porque solo se emplearon por 2 centros cada uno de ellos.

**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 <sub>10</sub>	UI/ml	Log <sub>10</sub>
VHC-1/12	238.190	5,38	282.000	5,45
VHC-2/12	224	2,35	480	2,68

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

**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-1/12	VHC-2/12
Media log <sub>10</sub>	5,34	2,55
Media log <sub>10</sub> $\pm$ 1,96 DE	5,12-5,56	2,24-2,85
Dentro de límites	89/96	84/96

DE: desviación estándar.

\*Expresados en log<sub>10</sub> UI/ml.

**Tabla 5**

Control del virus de la hepatitis C (VHC): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado\*

	Estándar	
	VHC-1/12	VHC-2/12
TaqMan® Roche		
Media log <sub>10</sub>	5,32	2,56
Límites aceptables <sup>b</sup>	5,16-5,48	2,26-2,86
Dentro de límites	76/82	76/81
PCR-RT Abbott		
Media log <sub>10</sub>	5,39	2,46
Límites aceptables <sup>b</sup>	5,12-5,66	2,17-2,73
Dentro de límites	8/9	8/9

\*Expresado en log<sub>10</sub> UI/ml.

<sup>b</sup>Media  $\pm$  1,96 DE.

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 96 participantes que contestaron al control, 71 realizaron el genotipado del VHC (73,9%). El 54,9% de estos informó un genotipo 1a, coincidente con el valor aportado por el laboratorio de referencia, el 29,6% lo informó como 1b, el 14,1% lo informó como genotipo 1 y el 1,4% restante informó como 1a/1b. 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. Cabe destacar que todos los centros que utilizaron los reactivos de PCR-RT de Abbott informaron el genotipo como 1a, al igual que la mayoría de los que emplearon INNOLiPA HCV (Siemens) y secuenciación de desarrollo propio, mientras que la mayoría de los que emplearon Linear Array (Roche) informó genotipo 1 y la mayoría de los que emplearon secuenciación de TRUGENE informó 1b (esta última técnica informada por solo 3 centros). En ninguna ocasión se informaron genotipos diferentes del 1 (tabla 6).

**Tabla 6**  
Análisis de los resultados del genotipado del virus de la hepatitis C (VHC) (estándar VHC-1/12)

Método	Marca	Genotipo 1a <sup>a</sup>	Genotipo 1b <sup>a</sup>	Genotipo 1 <sup>a</sup>	Genotipo 1a/1b <sup>a</sup>	Total <sup>b</sup>
Hibridación inversa	INNOLiPA HCV (Siemens)	26 (60,5)	16 (37,2)	–	1 (2,3)	43 (60,6)
	Linear array HCV (Roche)	–	1 (9,1)	10 (90,9)	–	11 (15,5)
PCR-RT	Abbott RT HCV	8 (100,0)	–	–	–	8 (11,3)
Secuenciación	Trugene (Siemens)	1 (33,3)	2 (66,7)	–	–	3 (4,2)
	Desarrollo propio	4 (80,0)	1 (20,0)	–	–	5 (7,0)
RFLP	Desarrollo propio	–	1 (100,0)	–	–	1 (1,4)
Total	–	39 (54,9)	21 (29,6)	10 (14,1)	1 (1,4)	71 (100,0)

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *real time*; RFLP: polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción.

<sup>a</sup>Entre paréntesis, % respecto a los centros que realizan su mismo método y marca.

<sup>b</sup>Entre paréntesis, % respecto al total de centros participantes.

## 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<sup>14,15</sup>, y más teniendo en cuenta que se trata de variabilidad interlaboratorio. Se detectan 3 resultados falsamente negativos. 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 de VHB se remitieron 2 estándares de plasma congelado (VHB-1/12 y VHB-2/12) 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 ( $\log_{10}$  UI/ml) comparando los resultados individuales obtenidos por cada participante respecto al IC del 95% (media  $\pm$  1,96 DE) de todos los que utilizaron su mismo método comercial<sup>12,13</sup>. 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 aberrantes<sup>1</sup>.

### Resultados del control VHB

En este control se remitieron muestras a 85 laboratorios (5 centros más que el año anterior), de los que 77 respondieron (90,6%). 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 (63 centros, 81,8%),

**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 <sub>10</sub>	UI/ml	Log <sub>10</sub>
VHB-1/12	444	2,65	170	2,23
VHB-2/12	16.159	4,21	29.600	4,47

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

seguida a distancia por la PCR-RT de Abbott (8 participantes, 10,4%), el sistema Versant® bDNA de Siemens (3 centros, 3,9%), y el resto (3,9%) empleó en 2 ocasiones PCR-RT de Qiagen Diagnostics y en la restante una PCR de desarrollo propio.

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, alrededor del 88% se encontraba dentro del intervalo de aceptación. Cabe destacar que 4 centros obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable. Además, en 2 ocasiones no se detecta carga viral en el estándar de carga baja, ya que emplean la técnica de bDNA de Siemens, cuyo límite de detección (400 UI/ml) estaba muy próximo al que presentaba la muestra. En general, una vez eliminados los resultados aberrantes, estos fueron buenos.

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 mayoría de los valores anómalos se obtuvieron con la técnica de PCR-RT Taqman® de Roche, ya que fue la más ampliamente utilizada (63 participantes). Es por esto por lo que las conclusiones que de ella se derivan son las más consistentes. Mediante esta técnica, un total de 10 resultados de 126 (7,9%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 4 se obtuvieron con el estándar VHB-1/12 y 6 con el VHB-2/12, detectándose carga viral en todas las ocasiones. Además, uno de los 3 centros que no presenta ninguno de sus valores dentro del intervalo de aceptación podría ser debido a un error de transcripción de los resultados en la página *web* (fase postanalítica) o a un error de etiquetado (fase preanalítica), ya que los resultados de ambos estándares parece que estén intercambiados.

En cuanto al sistema de PCR RT de Abbott, todos los valores informados se encuentran dentro del IC. Con respecto a los 3 participantes

**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-1/12	VHB-2/12
Media log <sub>10</sub>	2,32	4,43
Media log <sub>10</sub> ± 1,96 DE	1,99-2,64	3,95-4,91
Dentro de límites	68/77	68/77

DE: desviación estándar.

\*Expresados en log<sub>10</sub> UI/ml.

**Tabla 9**

Control del virus de la hepatitis B (VHB): análisis de los resultados dentro de límites según el método comercial utilizado\*

	Estándar	
	VHB-1/12	VHB-2/12
<b>TaqMan® Roche</b>		
Media log <sub>10</sub>	2,27	4,48
Límites aceptables <sup>b</sup>	2,01-2,54	4,18-4,78
Dentro de límites	59/63	57/63
<b>PCR-RT Abbott</b>		
Media log <sub>10</sub>	2,51	3,97
Límites aceptables <sup>b</sup>	2,21-2,82	3,32-4,62
Dentro de límites	8/8	8/8
<b>bDNA Versant® Siemens</b>		
Media log <sub>10</sub>	2,64	4,64
Límites aceptables <sup>b</sup>	<LD-2,64	4,62-4,66
Dentro de límites	3/3	3/3

<LD: menor al límite de detección de la técnica.

<sup>a</sup>Expresado en log<sub>10</sub> UI/ml.

<sup>b</sup>Media ± 1,96 DE.

que usan bDNA de Siemens, teniendo en cuenta que el estándar VHB-2/12 presentaba una carga muy próxima a su límite de detección, se aceptaron como válidos los 2 resultados informados como < 357 UI/ml; analizado de este modo, esta técnica tampoco presentó ningún resultado fuera del intervalo de aceptación, aunque realmente las muestras presentaban ADN del VHB. Estos últimos datos deben evaluarse con prudencia, pues se dispone de pocos centros para poder extraer conclusiones, especialmente en el caso de bDNA (Siemens).

#### Comentarios y conclusiones al control VHB

Desde el punto de vista de valoración general de los resultados, los aquí presentados deben ser considerados como aceptables y co-

herentes con lo esperado. La mayor parte de los participantes incluyen sus resultados individuales dentro del intervalo de aceptación (IC del 95%). No obstante es importante que los laboratorios, de forma individual, 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.

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

#### Bibliografía

1. Bevington PR, Robinson DK. Data reduction and error analysis for the physical sciences. 3rd ed. Boston: McGraw-Hill; 2003.
2. 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](http://www.qcmd.org)
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Ovies 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.
7. Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Ovies 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.
8. Orta Mira N, Guna Serrano MR, Latorre Martínez JC, Ovies 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 2011. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013;31 Supl 1:8-13.
9. 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.
10. 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.
11. Muyldermans G, Debaisieux L, Franssen 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.
12. Niesters HGM. QCMD 2005 hepatitis C virus (HCVRNA05) proficiency programme. Final report. Glasgow: Quality Control for Molecular Diagnostics, 2005. Disponible en: [www.qcmd.org](http://www.qcmd.org)
13. 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.
14. 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.
15. Martínez-Bauer E, Crespo J, Romero-Gómez M, Moreno-Otero R, Sola R, Tesei 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.