



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 2013

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

^aPrograma de Control de Calidad Externo SEIMC

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

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

^dDepartamento 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 es 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 2013. En el control del 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 víricos 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 uno a varios resultados fuera de los límites aceptables (media ± 0,25 log₁₀ copias/ml) dependiendo del estándar y del método empleado, en promedio el 25% de los centros. La repetibilidad fue excelente y más del 98,9% de los laboratorios obtuvo resultados aceptables (D < 0,5 log₁₀ 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 82% en el caso del VHC y del 78% 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.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Analysis of the results of the HIV-1, HCV and HBV viral load of SEIMC External Quality Control Program. Year 2013

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 2013 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 log₁₀ copies/mL; two of these standards were identical aiming to determine repeatability. A significant proportion of the laboratories (25% on average) obtained values out of the accepted range (mean ± 0.25 log₁₀ copies/mL), depending on the standard and on the method used for quantification. Repeatability was excellent, with up to 98.9% of laboratories reporting

*Autor para correspondencia.

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

results within the limits ($D < 0.5 \log_{10}$ copies/mL). The HBV and HCV program consisted of two standards with different viral load contents. Most of the participants, 82% in the case of HCV and 78% in the HBV, obtained all the results within the accepted range (mean ± 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.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La determinación cuantitativa del 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 uno de los estándares remitidos. 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 2013 se remitió a los participantes 5 estándares de plasma congelado, denominados VIH-1/13 a VIH-5/13, que se habían analizado y valorado 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 distintos con viremia, buscando contenidos teóricos dentro de un intervalo de 2-5 unidades logarítmicas. Los estándares VIH-1/13 y VIH-2/13 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-3/13 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), tal como se muestra en la tabla 1, quienes 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.

Tabla 1

Control del virus de la inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1): resultados de los laboratorios de referencia (LR) 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-1/13	10.453	4,02	9.261	3,97	7.470	3,87
VIH-2/13	10.180	4,01	11.270	4,05	7.330	3,86
VIH-3/13	< 40	-	< 37	-	< 20	-
VIH-4/13	78.515	4,89	77.960	4,89	74.300	4,87
VIH-5/13	67	1,83	75	1,87	170	2,23

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *real time*.

Criterios de evaluación

Para demostrar la especificidad de las determinaciones se contaba con el estándar VIH-3/13 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-1/13 y VIH-2/13 (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 $\pm 0,25 \log_{10}$. Los estándares VIH-1/13 y VIH-2/13 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 técnica²⁻⁸ 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 102 participantes, de los que 99 remitieron respuesta (97,1%). El método más empleado fue la PCR-RT Taqman® de Roche (78,8%), seguido por la PCR-RT de Abbott (8,1%), la kPCR® de Siemens (6,1%), el NASBA-RT Nuclisens® de bioMérieux (4,0%) y el resto de participantes (3, el 3,0%) informaron otras técnicas distintas (PCR-RT de Qiagen y PCR-RT *in house*). En esta edición del control de carga viral, como ya sucedió el año anterior, 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 son buenos, aunque un participante detectó genoma de VIH-1 en el estándar negativo (VIH-3/13). En cuanto a la variabilidad de los resultados, la mayor parte de los que se encuentran fuera del intervalo de aceptación se correspondió con el estándar VIH-5/13 (estándar con menor carga viral). Asimismo, de la tabla 2 se puede deducir la existencia de una 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 uti-

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-1/13	VIH-2/13	VIH-3/13	VIH-4/13	VIH-5/13
TaqMan® Roche					
Media log ₁₀ ^a	3,99	3,99	Indetectable	4,89	2,34
Límites aceptables ^b	3,74-4,24	3,74-4,24	-	4,64-5,14	2,09-2,59
Dentro de límites	71/78	68/78	77/77 ^c	74/78	65/78
PCR-RT Abbott					
Media log ₁₀ ^a	3,98	3,98	Indetectable	4,86	1,85
Límites aceptables ^b	3,73-4,23	3,73-4,23	-	4,61-5,11	1,60-2,10
Dentro de límites	8/8	8/8	8/8	8/8	7/8
Versant® kPCR Siemens					
Media log ₁₀ ^a	3,99	3,99	Indetectable	4,81	1,72
Límites aceptables ^b	3,76-4,26	3,76-4,26	-	4,56-5,06	1,47-1,97
Dentro de límites	6/6	6/6	6/6	6/6	5/6
Nuclisens®-RT bioMérieux					
Media log ₁₀ ^a	4,29	4,29	Indetectable	4,91	1,64
Límites aceptables ^b	4,04-4,54	4,04-4,54	-	4,66-5,16	1,39-1,89
Dentro de límites	4/4	3/4	3/4	3/4	1/4

^aSe calculó sobre cada método, excluyendo los valores aberrantes.^bMedia \pm 0,25 log₁₀ copias/ml.^cPara 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).

lizando 2 métodos no son siempre comparables. Estos resultados, en su conjunto, son similares a los obtenidos en el Programa SEIMC de otros años³⁻⁸.

En cuanto a los métodos de PCR-RT, el comercializado por Roche (Taqman®) obtiene un 11,3% de resultados fuera del límite de aceptación, el de Abbott el 2,5%, el de Siemens un 3,3%, y el de bioMérieux un 30,0%, 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 8 a 4, dependiendo de la técnica). Por otro lado, todos los centros informaron bien al menos 1 de los 5 estándares, y la mayoría fallaron en tan solo 1 de ellos.

En cuanto a los resultados del estudio de repetibilidad, todos menos 1 de los participante (n = 98; 98,9%) obtuvieron resultados reproducibles ($\Delta < 0,5$ log₁₀). Cabe destacar que en la mayoría de los centros la diferencia entre ambos valores fue inferior al 0,1 log₁₀.

Comentarios y conclusiones del 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 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 el porcentaje de valores que se sitúa fuera del intervalo de aceptación de $\pm 0,25$ log₁₀ copias/ml alrededor de la media para cada técnica no fue muy alto, y que la mayor experiencia se obtiene con la técnica PCR-RT Roche. El resto de métodos se emplean 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 muy buenos, ya que tan solo 1 centro no superó la prueba.

Cuando se analiza la especificidad, los resultados también fueron muy buenos. Aunque hay que comentar que un mismo centro obtuvo un resultado falsamente positivo y otro falsamente negativo, por lo que cabe la posibilidad de que se tratara de un intercambio de resultados en los estándares ensayados, error fase pre o postanalítica. 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 externos²⁻¹¹, 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-1/13 y VHC-2/13) obtenidos de 2 pacientes distintos con viremia por 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 se habían analizado 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). También se solicitó la realización del genotipado a todos los participantes que en sus centros dispusieran de dicha técnica, en esta ocasión el genotipado se debía realizar con el estándar VHC-1/13, el cual se había informado por el laboratorio de referencia como VHC genotipo 1a mediante Abbott PCR-RT HCV.

Tabla 3

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

Estándar	PCR-RT Abbott (LR-A)		PCR-RT Taqman Roche (LR-B)	
	UI/ml	Log10	UI/ml	Log10
VHC-1/13	419.012	5,62	380.647	5,58
VHC-2/13	925	2,97	2.240	3,35

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *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-1/13	VHC-2/13
Media log ₁₀	5,59	3,27
Media log ₁₀ ± 1,96 DE	5,12-5,56	2,85-3,69
Dentro de límites	85/93	88/93

DE: desviación estándar.

*Expresados en log₁₀ UI/ml.

Criterios de evaluación

Los 2 estándares se analizaron de forma cuantitativa (log₁₀ UI/ml) comparando los resultados individuales obtenidos por cada participante respecto al intervalo de confianza (IC) del 95% (media ± 1,96 DE [desviación estándar]) de todos los que utilizaron su mismo método comercial^{12,13}. 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 102 laboratorios, de los que 93 respondieron (91,2%). De ellos, 74 realizaron también el genotipado del virus, lo que supone el 79,6% del total de participantes que enviaron hoja de respuesta.

La técnica utilizada mayoritariamente por los participantes para la realización de la carga viral fue la amplificación por PCR-RT, especialmente con el sistema comercial Taqman® de Roche (73 centros, el 78,3%). Catorce participantes (15,0%) utilizaron la PCR-RT de Abbott, 3 (3,2%) el b-DNA de Siemens, 2 (2,1%) la PCR-RT de Qiagen Diagnostics y uno la PCR *in house* (PCR de desarrollo propio).

La tabla 4 resume los datos para el total de participantes. La variabilidad fue similar en términos de desviación respecto a la media en ambos estándares (VHC-2/13 y VHC-1/13). Cuando se comparan todos los resultados informados independientemente de la técnica empleada, se encuentran dentro del intervalo de aceptación el 94,6%. Cabe destacar que solo un centro obtuvo ambos valores fuera del intervalo aceptable (3 cuando se compararon solo con los de su misma técnica). De forma general, y una vez eliminados los resultados aberrantes, los resultados obtenidos fueron buenos.

La tabla 5 resume los resultados comparados por cada una de las técnicas con la media de los que usan su mismo método, 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® Roche, ya que fue la más ampliamente utilizada (73 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 146, el 7,5%, quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 6 se obtuvieron con el estándar VHC-1/13 y

Tabla 5

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

	Estándar	
	VHC-1/13	VHC-2/13
TaqMan® Roche		
Media log ₁₀	5,59	3,35
Límites aceptables ^b	5,38-5,80	3,14-3,56
Dentro de límites	67/73	68/73
PCR-RT Abbott		
Media log ₁₀	5,56	3,10
Límites aceptables ^b	5,36-5,76	2,75-3,45
Dentro de límites	13/14	12/14

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

5 con el VHC-2/13, y se detectó carga viral en todas las ocasiones en que se empleó esta técnica.

En cuanto al resto de métodos, hay que resaltar que el sistema PCR-RT de Abbott presenta el 78,6% de sus valores dentro del intervalo de aceptación, y que los resultados fuera de este se corresponden 1 con el estándar VHC-1/13 y 2 con el VHC-2/13.

No se muestran los datos de los métodos bDNA de Siemens y PCR-RT de Qiagen, porque se emplearon por muy pocos 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 93 participantes que contestaron al control, 74 realizaron el genotipado del VHC (79,6%). El 78,4% de estos informó un genotipo 1a, coincidente con el valor aportado por el laboratorio de referencia, el 1,3% lo informó como 1b, el 18,9% lo informó como genotipo 1 y el 1,3% restante lo informó como 2a/2c. 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, los que realizaron secuenciación de desarrollo propio (5) y los que emplearon RFLP (polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción) de desarrollo propio (2) informaron el genotipo como 1a, del mismo modo que la mayoría de los que emplearon INNOliPA HCV (Siemens) y secuenciación de Trugene (Siemens), mientras que los que emplearon Linear Array (Roche), lo informaron como genotipo 1 y la mayoría de los que emplearon secuenciación de TRUGENE lo informaron como 1b (esta última técnica informada por solo 3 centros). Los datos se muestran en la tabla 6.

Comentarios y conclusiones del control VHC

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 incluyen sus resultados individuales dentro del intervalo de aceptación (IC del 95%). Se puede argumentar que los criterios establecidos por el Programa han sido demasiado permisivos, si bien hay que señalar que la DE ha sido inferior a 0,5 unidades logarítmicas para ambos estándares, cifra que se puede considerar aceptable desde el punto de vista del seguimiento clínico^{14,15}, más teniendo en cuenta que se trata de variabilidad interlaboratorio. No se detectaron 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.

Tabla 6

Análisis de los resultados del genotipado del virus de la hepatitis C (VHC) (estándar VHC-1/13)

Método	Marca	Genotipo 1a ^a	Genotipo 1b ^a	Genotipo 1 ^a	Genotipo 2a/2c ^a	Total ^b
Hibridación inversa	INNOLIPA HCV (Siemens)	40 (83,3)	–	7 (14,6)	1 (2,1)	48 (64,9)
	Linear array HCV (Roche)	–	–	7 (100,0)	–	7 (9,5)
PCR-RT	Abbott RT HCV	9 (100,0)	–	–	–	9 (12,2)
Secuenciación	Trugene (Siemens)	2 (66,7)	1 (33,3)	–	–	3 (4,0)
	Desarrollo propio	5 (100,0)	–	–	–	5 (6,7)
RFLP	Desarrollo propio	2 (100,0)	–	–	–	2 (2,7)
Total	–	58 (78,4)	1 (1,3)	14 (18,9)	1 (1,3)	74 (100,0)

^aEntre paréntesis % respecto a los centros que realizan su mismo método y marca.^bEntre paréntesis % respecto al total de centros participantes.PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *real time*; RFLP: polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción.**Tabla 7**

Control del virus de la hepatitis B (VHB): resultados de los laboratorios de referencia (LR) 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-1/13	202.236	5,31	82.800	4,92
VHB-2/13	4.529	3,66	888	2,95

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa *real time*.

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-1/13 y VHB-2/13) obtenidos de 2 pacientes distintos con viremia por 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 2 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^{12,13}. Al igual que con el control del VIH-1 y del VHC, para el cálculo de la media y de la desviación estándar se excluyeron los valores extremos y aberrantes¹.

Resultados del control VHB

En este control se remitieron muestras a 87 laboratorios (2 centros más que el año anterior), de los que 78 respondieron (89,6%). 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 (62 centros, el 79,5%), seguida a distancia por la PCR-RT de Abbott (11 participantes, 14,2%), el sistema Versant® bDNA de Siemens (2 centros, 2,6%), la PCR-RT de Qiagen Diagnostics (2 centros, 2,6%) y el resto de participantes empleó una PCR de desarrollo propio.

La tabla 8 resume los datos para el total de participantes. La variabilidad fue mayor en términos de desviación respecto a la media para el estándar VHB-2/13 (estándar de menos carga viral). Del total de resultados informados se encontraban dentro del intervalo de acep-

Tabla 8Control del virus de la hepatitis B (VHB): resultados comparados sobre el total de participantes, con independencia de la técnica utilizada^a

	Estándar	
	VHB-1/13	VHB-2/13
Media log ₁₀	5,06	2,84
Media log ₁₀ \pm 1,96 DE	4,70-5,42	2,17-3,51
Dentro de límites	72/78	68/78

DE: desviación estándar.

^aExpresados en \log_{10} UI/ml.

tación alrededor del 84,6%. Cabe destacar que 4 centros obtuvieron ambos valores fuera del intervalo aceptable (uno de ellos por posible error en la fase pre o postanalítica). En todas las ocasiones se detecta carga viral en ambos estándares. En general, una vez eliminados los resultados aberrantes, estos fueron buenos.

La tabla 9 resume los resultados comparados por las técnicas empleadas mayoritariamente con la media de los que usan su misma técnica, aunque no se muestran los datos de los métodos bDNA de Siemens y PCR-RT de Qiagen, porque se emplearon por muy pocos centros. 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® Roche, ya que fue la más ampliamente utilizada (62 participantes). Es por esto por lo que las conclusiones que de ella se derivan son las más consistentes. Mediante esta técnica, un total de 16 resultados de 124 (12,9%) quedaron fuera del intervalo de aceptación, de los cuales 9 se obtuvieron con el estándar VHB-1/13 y 7 con el VHB-2/13 y se detectó carga viral en to-

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

	Estándar	
	VHB-1/13	VHB-2/13
TaqMan Roche		
Media log ₁₀	5,01	2,75
Límites aceptables ^b	4,70-5,32	2,50-3,00
Dentro de límites	53/62	55/62
PCR-RT Abbott		
Media log ₁₀	5,27	3,52
Límites aceptables ^b	5,00-5,55	3,30-3,74
Dentro de límites	11/11	10/11

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

das las ocasiones. Además, 1 de los 3 centros que no presenta ninguno de sus valores dentro del intervalo de aceptación se podría deber 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, 10 de los 11 participantes que emplean esta técnica tienen ambos valores dentro del intervalo de aceptación (90,9%). El centro restante solo presenta 1 de los 2 valores dentro del intervalo de aceptación (estándar de mayor carga).

Comentarios y conclusiones del 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 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

- 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, 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.
- 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.
- Documentos CCS [consultado 1-2015]. Disponible en: <http://www.seimc.org/controldecalidadseimc>
- 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, 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.
- 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.