

CONTROL DE CALIDAD DE SEROLOGÍA (S-3/02)

En el presente control se remitió a los distintos laboratorios participantes una muestra de suero liofilizado que había sido analizado y valorado para la detección de anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) por un centro de referencia con experiencia en el diagnóstico serológico, y cuyos resultados fueron los siguientes:

- **Anticuerpos frente al VIH 1+2 mediante MEIA: Positivo (Axsym® Abbott); ELFA: Positivo (VIDAS Duo® bioMérieux).**
- **Anticuerpos frente al VIH-1 mediante *immunoblot*: Indeterminado (New Lav Blot® BioRad); Negativo (PeptiLav® BioRad)**
- **Anticuerpos frente al VIH-2 mediante *immunoblot*: Positivo (New Lav Blot® y PeptiLav®, BioRad)**

La muestra de suero pertenecía a un varón de 32 años de edad, inmigrante procedente de Mozambique, que acudió a Urgencias Médicas por presentar un cuadro de dos semanas de evolución, con disnea progresiva, tos seca con dolor retroesternal ocasional y fiebre de 39 °C. En la exploración presentaba *muguet* oral, adenopatías axilares e inguinales no dolorosas e hipoventilación de ambas bases pulmonares. La radiografía de tórax mostró un infiltrado intersticial alveolar bilateral, confirmado por la TAC torácica, sin apreciarse en ella adenopatías mediastínicas. Como antecedentes de interés, el paciente comentó que llevaba en nuestro país tres meses y que su mujer murió de sida poco antes de emigrar. El cultivo bacteriológico de esputo fue negativo y no se observaron bacilos ácido-alcohol resistentes. En las muestras obtenidas por fibrobroncoscopia se observaron quistes de *Pneumocystis carinii*. Se remitió suero del paciente a Microbiología, solicitándose la detección de anticuerpos frente al/a los VIH (en adelante, en singular).

Con una solicitud similar, desde el Programa de Control de Calidad se envió un total de 231 muestras de suero a los diferentes laboratorios, de los que 207 remitieron respuesta. De éstos, cinco participantes informan que no se realizan estas determinaciones en su laboratorio, por lo que la participación real fue de 202 laboratorios (87,4%).

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE AL VIH

Prueba de cribado de anticuerpos frente al VIH 1+2

La prueba de cribado VIH 1+2 es realizada por 201 laboratorios (99,5%) de los 202 participantes que enviaron hoja de respuesta analizable. De esos 201 centros, 30 realizan dos pruebas de cribado para la detección de anticuerpos frente a estos virus, por lo que en realidad se llevan a cabo 231 determinaciones. De éstas, 226 (97,9%) dan un resultado positivo, coincidente con el del laboratorio de referencia, cuatro (1,7%) un resultado negativo y uno (0,4%) un valor indeterminado. En cuanto a los métodos empleados, como se puede observar en la tabla 1, cabe destacar la utilización de las pruebas de enzimoanálisis, fundamentalmente la técnica de enzimoensayo de micropartículas (MEIA), que es empleado por 117 participantes (51,5%) y en segundo lugar un EIA sin especificar, utilizado en 67 ocasiones (30,3%). Entre los laboratorios que emplean la técnica de MEIA, hay dos centros que utilizan un "MEIA combo" (Abbott) que detecta anticuerpos y antígeno, y en ambos casos el resultado fue positivo.

Tabla 1. Prueba de cribado de VIH 1+2: resultados según método.

Método	Positivo	Negativo	Indeterminado	Total	
				Nº	%
MEIA	117	2	–	119	51,5
EIA	67	2	1	70	30,3
ELFA	30	–	–	30	13,0
IC	5	–	–	5	2,2
IQL	5	–	–	5	2,2
No consta	2	–	–	2	0,8
Total	226	4	1	231	100,0

MEIA: enzimoensayo de micropartículas; EIA: enzimoanálisis; ELFA: enzimoanálisis fluorescente; IC: inmunocromatografía; IQL: inmunoquimioluminiscencia

Por lo que respecta a los equipos comerciales, a pesar de la gran variabilidad de marcas, destaca la amplia utilización de los equipos de Abbott, que en conjunto suman 130 de las 231 determinaciones realizadas (56,3%). El equipo Vidas Duo® de bioMérieux (que detecta anticuerpos y antígeno p24) fue utilizado por un 13,0% de los participantes y los equipos de Roche y Dade-Behring por un 6,9% y 5,6%, respectivamente. Todos estos datos los encontramos en la tabla 2. Por lo que respecta a los cinco resultados no coincidentes con el laboratorio de referencia, el resultado indeterminado y cuatro negativos han sido obtenidos con reactivos de Abbott y de BioRad, pero dado el elevado número de centros que utilizan estas marcas y el acierto en la interpretación de sus resultados, parece claro que no marcan ninguna tendencia significativa. Finalmente, cabe señalar que son 88 los centros que emplearon equipos de Abbott y que, junto a la interpretación positiva del resultado, aportaron un valor cuantitativo cuyo intervalo osciló entre 9,51 y 29,87.

Hubo cuatro centros que realizaron una prueba de cribado de VIH-1, empleando en todos los casos una técnica de EIA con distintos equipos comerciales (Innogenetics, Abbott, Murex). Tres de ellos obtuvieron un resultado negativo y

uno no informó del resultado obtenido. Excepto éste, todos realizaron también la prueba de cribado con detección conjunta de VIH 1+2, con resultado positivo en todos los casos.

En cuanto al VIH-2, son seis los laboratorios que llevaron a cabo la detección de anticuerpos frente a este virus, con resultado positivo en cinco ocasiones y sin interpretación en la restante. Tres de esos cinco laboratorios utilizaron equipos de BioRad y dos no lo especificaron; el que no interpretó el resultado declaró utilizar reactivos de Abbott. Excepto este último, todos realizaron también la prueba de cribado de VIH1+2 con resultado positivo en todos los casos.

Tabla 2. Marcas utilizadas en la detección de anticuerpos frente al VIH 1+2.

Marca	Número	%
Axsym® Abbott	79	34,2
Abbott sin especificar	51	22,1
Vidas Duo® bioMérieux	30	13,0
Cobas-Core® Roche	16	6,9
Enzygnost® Dade-Behring	13	5,6
IMX® Abbott	7	3,0
Roche	6	2,6
No informa	6	2,6
Biotest	4	1,7
Vitros® (Ortho)	4	1,7
BioRad sin especificar	3	1,3
Otros	12	5,2
Total	231	100,0

Análisis de los resultados de las pruebas de confirmación del VIH-1

La prueba de confirmación de la infección por VIH-1 es realizada por 131 laboratorios de los 202 centros que enviaron hoja de respuesta evaluable (64,9%). De ellos, 81 participantes (61,8%) aportan un resultado negativo, 42 (32,1%) un resultado indeterminado, siete (5,3%) un resultado positivo y tan solo uno (0,8%) no interpreta el resultado. Como puede observarse en la tabla 3, el método mayoritariamente empleado es el inmunoensayo en bandas (LIA) (50,3%) seguido del *western-blot* (44,3%). Cabe señalar, que mientras el LIA presenta un alto porcentaje de resultados claramente negativos, el *western-blot* muestra un elevado número de resultados indeterminados.

Tabla 3. Prueba de confirmación de VIH-1: resultados según método empleado.

Método ^a	Negativo	Positivo	Indeterminado	No informa	Total	
					Nº	%
LIA	60	3	2	1	66	50,3
WB	17	3	39	–	59	45,1
EIA	3	1	–	–	4	3,1
No informa	1	–	1	–	2	1,5
Total	81	7	42	1	131	100,0

^aLIA: Inmunoensayo en bandas; WB: *western blot*; EIA: enzimoimmunoensayo.

Por lo que respecta a la marca comercial empleada, a pesar de la gran variabilidad, destaca por su amplia utilización el equipo InnoLia® de Innogenetics con un 45,9% de las determinaciones. Como puede observarse en la tabla 4, este equipo consigue un porcentaje muy elevado de resultados negativos, coincidentes con el del laboratorio de referencia, que contrasta con el alto porcentaje de resultados indeterminados obtenidos por otras marcas comerciales, fundamentalmente ligadas al método *western blot*. Alguno de estos participantes comentan que podría tratarse de una reacción cruzada, dada la positividad del VIH 2. Finalmente, un número importante de laboratorios (10,6%) no informa sobre la marca empleada, cuestión sobre la que volvemos a incidir desde el Programa de Control de Calidad, por la importancia que los datos aportados tienen a la hora de obtener conclusiones fidedignas.

Tabla 4. Resultados de la prueba de confirmación de VIH-1 según marca comercial.

Marca	Negativo	Positivo	Indeterminado	No interpreta	Total	
					Nº	%
InnoLia® (Innogenetics)	55	2	2	1	60	45,9
BioRad sin especificar ^a	4	1	20	–	25	19,1
No informa	7	2	5	–	14	10,6
Biokit® (Izasa)	8	–	2	–	10	7,7
New Lav Blot® (BioRad)	–	–	8	–	8	6,1
PeptiLav® (BioRad)	5	–	–	–	5	3,8
Sanofi-Pasteur ^a	–	1	3	–	4	3,1
Otros	2	1	2	–	5	3,8
Total	81	7	42	1	131	100,0

^aAunque podría tratarse del mismo reactivo, se han consignado separadamente.

Análisis de los resultados de las pruebas de confirmación del VIH-2

La prueba de confirmación de infección por el VIH-2 fue llevada a cabo por 120 de los 202 laboratorios que remitieron hoja de respuesta analizable (59,4%). De ellos, 118 centros (98,4%) informaron un resultado positivo, coincidente con el del laboratorio de referencia, un participante (0,8%) aportó un resultado indeterminado y otro (0,8%) no informó del resultado. Como puede observarse en la tabla 5, el método mayoritariamente empleado fue el inmunoensayo en bandas (66,7%) y en segundo lugar el *western-blot* (25%). Tan solo tres centros no informaron acerca del método empleado. En la tabla 6 se ofrece un análisis similar centrado en las marcas comerciales. De nuevo, cabe señalar el alto porcentaje (13,4%) de participantes que no informan sobre la marca empleada, aunque quizá en este caso tenga explicación dado el elevado número de laboratorios que recurren a un centro de referencia para realizar esta prueba. Podemos concluir que, a pesar de la amplia variedad de equipos utilizados, los resultados fueron, prácticamente en su totalidad, coincidentes con el del laboratorio de referencia.

Tabla 5. Prueba de confirmación de VIH-2: resultados según método.

Método ^a	Positivo	Indeterminado	No informa	Total	
				Nº	%
LIA	79	–	1	80	66,7
WB	29	1	–	30	25,0
EIA	4	–	–	4	3,3
No informa	3	–	–	3	2,5
<i>Immunoblot</i>	2	–	–	2	1,7
EID	1	–	–	1	0,8
Total	118	1	1	120	100,0

^aLIA: inmunoensayo en bandas; WB: *western blot*; EID: *enzimoimmuno-dot*.

Tabla 6. Prueba de confirmación del VIH-2: resultados según marca comercial.

Marca	Positivo	Indeterminado	No interpreta	Total	
				Nº	%
InnoLia® (Innogenetics)	68	–	1	69	57,5
No informa	16	–	–	16	13,4
PeptiLav® (BioRad)	12	–	–	12	10,0
BioRad sin especificar	9	–	–	9	7,5
Biokit® (Izasa)	5	–	–	5	4,2
New Lav Blot® (BioRad)	2	1	–	3	2,5
Sanofi Pasteur	2	–	–	2	1,7
Otros	4	–	–	4	3,2
Total	118	1	1	120	100,0

^aAunque podría tratarse del mismo reactivo, se han consignado separadamente.

De los 120 laboratorios que realizaron esta determinación, fueron 85 (70,8%) los que informaron acerca del patrón de bandas obtenido, con claro predominio de aquellos patrones en los que se detectan anticuerpos frente a las glucoproteínas específicas del VIH-2 (tabla 7).

Tabla 7. Patrones de bandas obtenidos.

Bandas	Número	%
gp36, gp105; p31	45	54,9
gp36, gp105	15	17,6
gp36	11	12,9
gp36, 105, 140; p16, 26, 56, 68	4	4,7
gp36, 41, 105	1	1,2
gp36, 105; p56, 68	1	1,2
gp36, 105, 140; p34, 56, 68	1	1,2
p31	1	1,2
gp140, 105, 36; p68, 16, 26, 56	1	1,2
Otros	5	5,9
Total	85	100,0

Análisis de la determinación del antígeno p24

Realizaron esta prueba 14 de los 202 laboratorios (6,9%) que remitieron una respuesta analizable, siendo el resultado negativo en 13 casos (92,9%) y positivo en uno (7,1%). La tabla 8 resume los resultados por métodos. Con respecto a los equipos comerciales empleados, existe una gran variabilidad de los mismos, sin que se puedan extraer conclusiones con valor estadístico, dado el reducido número de datos. No obstante cabe señalar que hay una

coincidencia casi completa en el resultado cualitativo obtenido. Hay que comentar también que el resultado positivo que aparece, y que es realizado con el equipo Vidas Duo® (bioMérieux), podría deberse a que emplearan esta técnica que detecta antígeno pero también anticuerpos frente a VIH-1 y VIH-2.

Tabla 8. Métodos empleados en la detección de antígeno p24.

Método ^a	Negativo	Positivo	Total	
			Nº	%
EIA	7	–	7	50,0
No informa	4	–	4	28,6
ELFA	1	1	2	14,3
IQL	1	–	1	7,1
Total	13	1	14	100,0

^aAbreviaturas en la tabla 1.

Tabla 9. Marcas comerciales utilizadas en el antígeno p24.

Marca	Negativo	Positivo	Total	
			Nº	%
Innogenetics	3	–	3	21,5
Abbott	2	–	2	14,3
Vidas Duo® bioMérieux	1	1	2	14,3
bioMérieux	2	–	2	14,3
No informa	2	–	2	14,3
Elecsys® (Roche)	2	–	1	7,1
Murex® (Izasa)	2	–	1	7,1
Roche	2	–	1	7,1
Total	13	1	14	100,0

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que se refiere a la utilización del laboratorio de referencia, de los 202 laboratorios que enviaron hoja de respuesta analizable, 142 (70,3%) señalan que no lo utilizan, 42 afirman utilizarlo, de los que la mayoría (36 participantes, el 17,8% del total) lo hace parcialmente y 18 (8,9%) no aporta información al respecto. En general, se puede concluir que la gran mayoría de los participantes disponen de los medios técnicos necesarios para realizar las pruebas de cribado pertinentes. Por el contrario hay que señalar que un porcentaje considerable de centros no dispone de los equipos necesarios para llevar a cabo las pruebas de confirmación. Así, seis participantes comentan expresamente que no se realizan pruebas de confirmación en su laboratorio y cinco centros que afirman no poder llevar a cabo la prueba de confirmación de VIH-2 por falta de reactivo específico. Finalmente, 13 participantes indican en sus comentarios la necesidad de enviar la muestra al laboratorio de referencia para confirmar la infección por uno de los tipos de VIH mediante *western-blot* u otra prueba de confirmación específica de tipo.

COMENTARIOS

De forma general, son 95 (47,0%) los laboratorios participantes que emiten algún tipo de comentario haciendo referencia a distintos aspectos del control de calidad, incluidos los señalados anteriormente sobre utilización de un laboratorio externo. Como cabría esperar dadas las características de este control, hay 28 centros (29,5%) que, a la vista de sus resultados, aprovechan los comentarios para concluir de forma explícita la existencia de una infección por el VIH-2, mientras que para otros nueve (9,5%) existe una sospecha clara de infección por este tipo de VIH. Uno de éstos expresa la conveniencia de establecer un diagnóstico diferencial con la infección por el VIH-1 del grupo 0. También hay tres participantes que señalan la necesidad de diferenciar una infección por el VIH-2 de otra causada por el VIH-1 en fase de seroconversión.

Son cuatro los laboratorios que indican la existencia de una reactividad cruzada con el antígeno p31 del VIH-1, por lo que el resultado del *western-blot* del VIH-1, como explica uno de los participantes, puede ser indeterminado. Otro participante indica la necesidad de establecer si realmente se trata de una reacción cruzada o una doble infección y finalmente hay un centro que aporta la idea de que los sueros de pacientes africanos suelen tener bandas de reactividad cruzada.

En cuanto a comentarios estrictamente clínico-epidemiológicos, los participantes no aportan muchos datos. Simplemente, alguno de ellos hace referencia al hecho de que se trata de un virus más frecuente en los países del África occidental y que presenta una evolución más lenta y clínicamente más benigna que el VIH-1. Sólo un participante hace referencia a la situación clínica del paciente afirmando que se trata de un sida estadio IV. Finalmente, son dos los participantes que indican la necesidad de iniciar el tratamiento antirretroviral y el oportuno seguimiento con recuentos de linfocitos CD₄, sin olvidar el cotrimoxazol para el cuadro respiratorio por *P. carinii* y el fluconazol para el *muguet*.