

HACIA LA ARMONIZACIÓN DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR: CARGA DE VIRUS EPSTEIN-BARR EN ARGENTINA I – EVALUACIÓN DE LAS CALIBRACIONES CON EL ESTÁNDAR EBV-OMS

Fellner MD¹; Durand KA¹; Rodriguez M²; Irazu L²; Picconi MA¹ y Red Nacional de Laboratorios de EBV.

¹Servicio Virus Oncogénicos, Laboratorio Nacional de Referencia de EBV, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Carlos G. Malbrán", Argentina

²Equipo Operativo Gestión de Calidad, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Carlos G. Malbrán", Argentina
grupoebv.dx@gmail.com mdfellner@anlis.gov.ar fellnermd@gmail.com

Participantes de la Red Nacional de Laboratorios de EBV: B. Livellara (Htal. Italiano de Buenos Aires); E. Sturba (Laboratorios Stambouljian); M. Rahdal, M.

Zubieta, S. Loudet (Hospital El Cruce); G. Cabral (Hospital Posadas); A. Suarez, M. Gabbarini (IACA Laboratorios); M.A. Baridón, F. Perez (Hospital Rossi, La Plata); M. Sciara, E. Zubillaga, F. Fay (Laboratorio CIBIC); A.G. Sanchez, T. Alvarelos (Hospital Privado Centro Medico de Cordoba); M.G. Barbás, G. Castro; A. Cudola (Laboratorio Central de Córdoba); C. Theaux (Hospital Durand); C. Ortowsky, S. Ferrini (Laboratorio Central de Corrientes); S. Lejona (CEMAR), G. García (Manlab), G. R. Perez (Gammalab- Rosario); S. Grutadauría (Laboratorio Elías Kiener – Córdoba); J. Galavotti, V. Arias, M. Benvenuti (Hospital Penna – Bahía Blanca); F. Bolcic (Clínica Raña – Neuquén); O. Jacquez (Hospital Gutierrez)

INTRODUCCIÓN

La determinación de la carga viral (CV) se aplica en el manejo de enfermedades asociadas al virus Epstein-Barr (EBV), como los Desórdenes Linfoproliferativos Post-Trasplante. Actualmente se utilizan una diversidad de estrategias metodológicas, lo que ha impedido la determinación de niveles virales indicativos de una conducta médica. Para conocer el estado del arte, la Red Nacional de Laboratorios de EBV (RNL-EBV) realizó un estudio de comparación de los métodos de CV utilizados en nuestro país, que reveló una alta variabilidad inter-laboratorio. Así, en el marco del establecimiento de un consenso en el diagnóstico molecular de EBV, la RNL-EBV inició acciones dirigidas a la armonización de los métodos de CV que se utilizan en Argentina con fines clínicos. El primer paso consistió en calibrar las respectivas metodologías con el Primer Estándar Internacional de EBV-OMS; hasta el momento, 21 laboratorios del país tienen sus CV calibradas en unidades internacionales (UI).

El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la calibración de los métodos de carga viral en UI sobre la variabilidad inter-laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

- ✓ El LNR envió a 18 laboratorios de la RNL-EBV, que disponían de metodologías de carga viral calibradas en UI y aceptaron participar, paneles de 5 muestras de plasma (n=11) o sangre entera (n=7). Ambos tipos de paneles contenían 3 muestras con concentraciones de EBV que diferían entre sí en 2 unidades de logaritmo, una réplica de una de ellas y una muestra que no incluía ADN viral. En su resolución participaron los 18 laboratorios de la RNL-EBV y el LNR.
- ✓ Se solicitó a los laboratorios participantes que determinaran las cargas virales sobre los paneles recibidos e informaran los resultados en copias/ml y UI/ml
- ✓ Para cada muestra se estimaron estadísticos descriptivos de posición y dispersión. Se definió la media consenso como el valor de la media luego de analizar la presencia de valores atípicos o *outliers* utilizando el test de Grubbs. Se estimó el error de medida como la diferencia entre el valor observado por cada participante y la media consenso respectiva.

RESULTADOS

CARGA DE EBV: copias/ml vs UI/ml

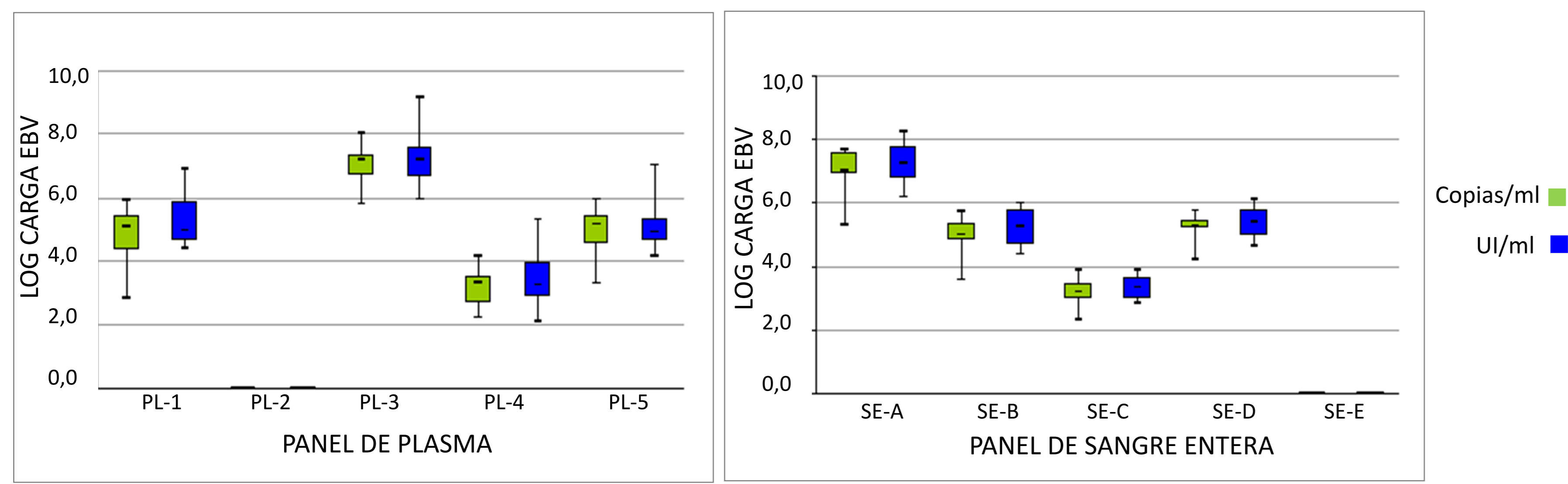


Figura 1. Carga de EBV en plasma y sangre entera: copias/ml vs UI/ml.

El gráfico muestra la distribución de la carga de EBV expresada en copias/ml y en UI/ml para las muestras EBV positivas de los paneles de plasma (PL-1, PL-2, PL-3, PL-4, PL-5) y sangre entera (SE-A, SE-B, SE-C, SE-D, SE-E). Las muestras PL-4 y PL-5 pudieron ser cuantificadas por 10 y 11 laboratorios y sólo detectadas por 2 y 1 de los participantes, respectivamente; mientras que las SE-C y SE-D, fueron cuantificadas por 11 laboratorios y sólo detectadas por uno. Las muestras PL-2 y SE-5 (que no incluían ADN viral) resultaron no detectables para todos los laboratorios

VARIABILIDAD INTER - LABORATORIO

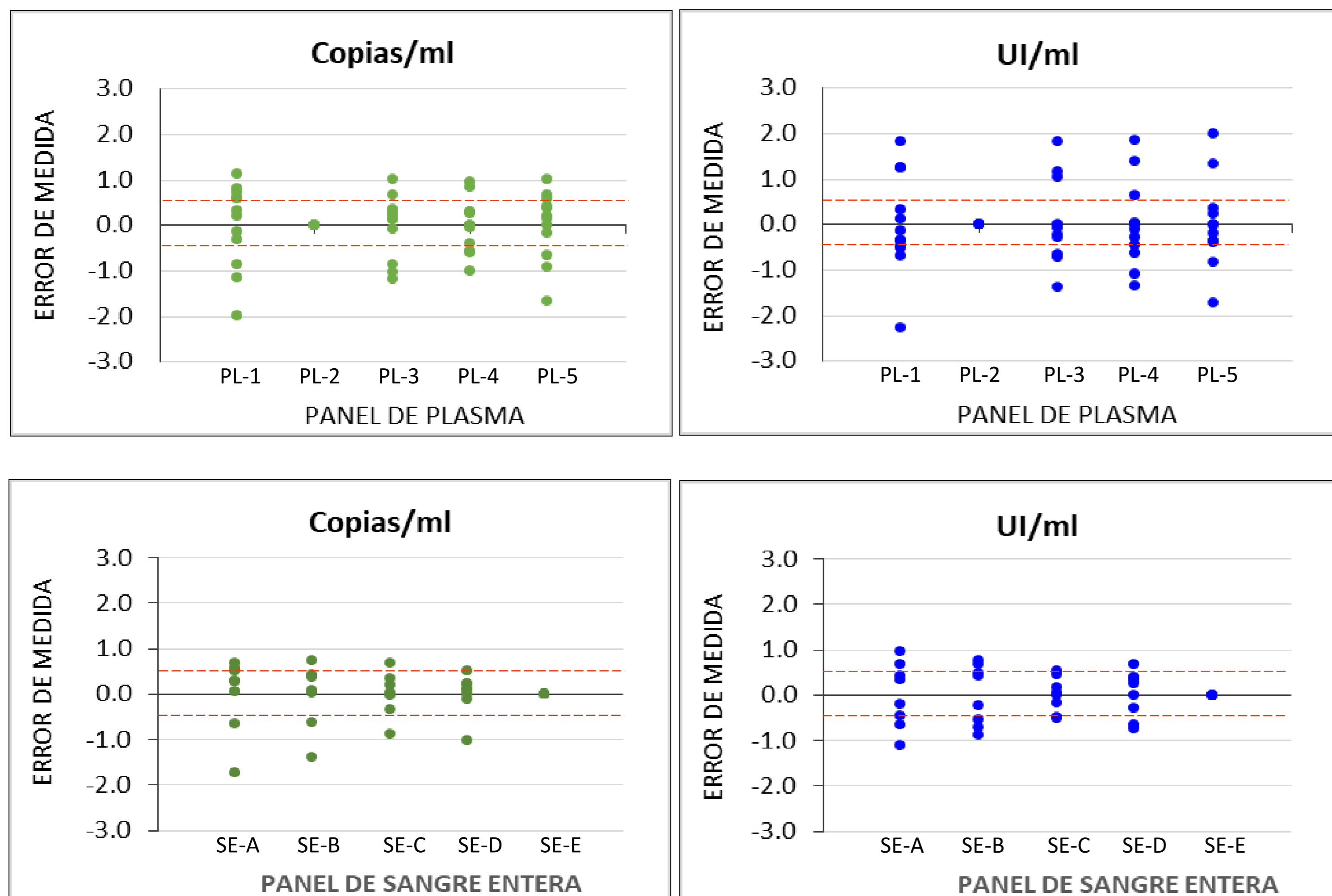


Figura 2. Análisis de la variabilidad inter-laboratorio. Se observa la dispersión de la carga viral determinada por cada participante para cada muestra de ambos paneles, respecto de la media consenso (arriba: plasma; abajo: sangre entera). La expresión en UI/ml en relación a copias/ml comprende un mayor número de resultados dentro del rango deseable (media consenso $\pm 0,5$ logs), aunque la diferencia no es significativa (Chi-cuadrado $p > 0,05$). Arriba, los laboratorios que midieron CV-EBV en plasma (PL-1, PL-2, PL-3, PL-4, PL-5) y abajo, en sangre entera (SE-A, SE-B, SE-C, SE-D, SE-E). La línea punteada señala el rango de variabilidad deseable (media consenso $\pm 0,5$ logs)

VARIABILIDAD INTRA - LABORATORIO

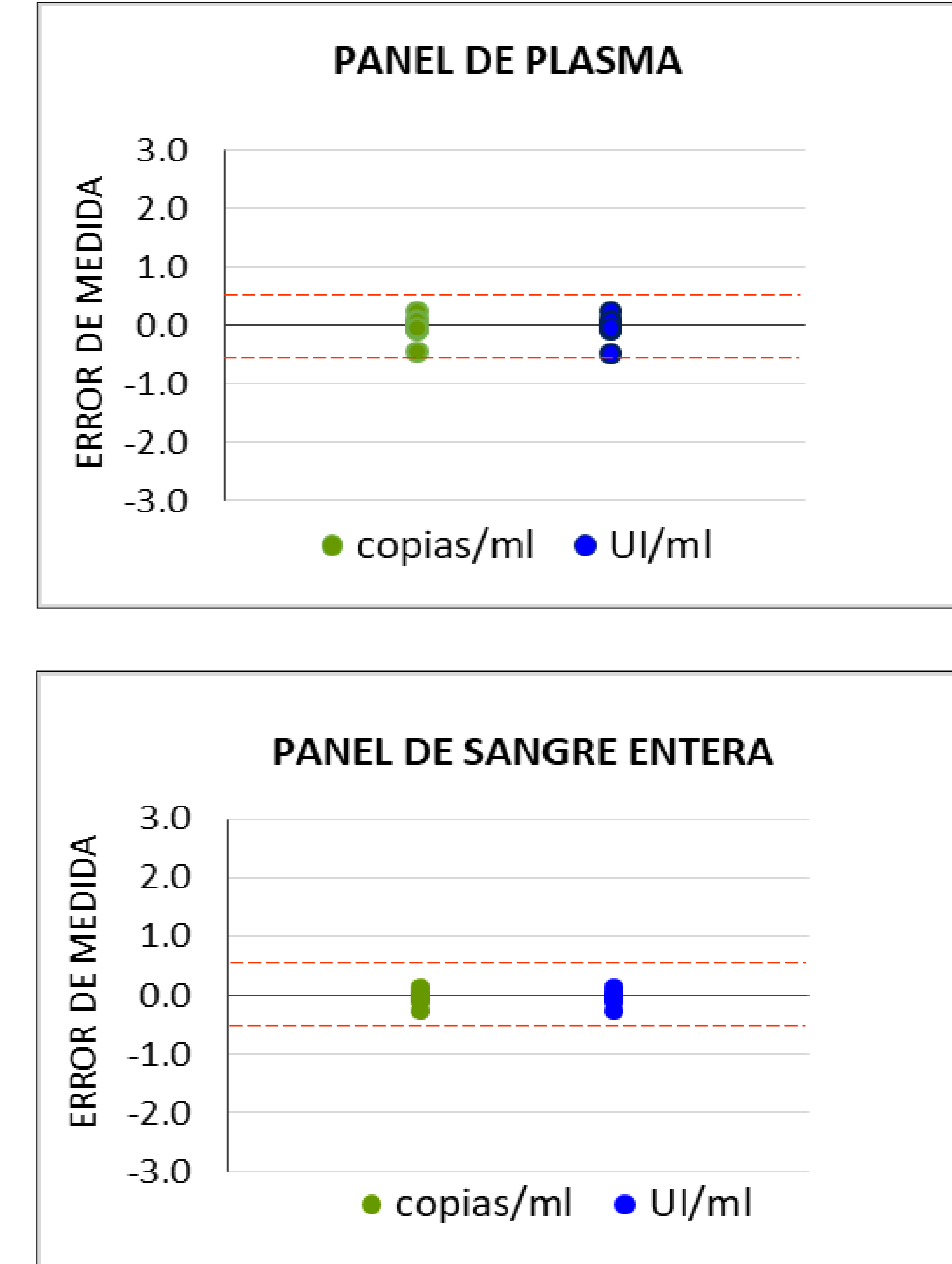


Figura 2. Análisis de la variabilidad intra-laboratorio. El gráfico muestra la diferencia de carga de EBV entre las muestras replicadas del panel de plasma, PL-1 y PL-5 (arriba) y de sangre entera, SE-B y SE-D (abajo). Todos los resultados de carga viral se hallan dentro del rango de variabilidad deseable (media consenso $\pm 0,5$ logs)

CONCLUSIONES

- La expresión de la carga viral en UI/ml, tanto en plasma en sangre entera, constituye el primer paso hacia la armonización metodológica; sin embargo no resultó suficiente para alcanzar una dispersión dentro del rango propuesto como deseable ($\pm 0,5$ logs).
- Se confirma que la variabilidad intra-laboratorio es adecuada ($< 0,5$ logs) para los fines de aplicación clínica (seguimiento de niveles virales en pacientes).
- Los participantes demostraron eficiencia para detectar muestras negativas y en general, para determinar un amplio rango de cargas virales en muestras positivas.

Perspectivas: Continuar con acciones tendientes a la armonización metodológica de la carga de EBV y enfocar otros posibles factores de variabilidad, en el camino para alcanzar un consenso en el diagnóstico de EBV.