

"Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV"

ESTUDIO DE DESEMPEÑO EN LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE ADN DEL VIRUS DE EPSTEIN-BARR

INFORME SOBRE LOS PANELES DE MUESTRAS CLÍNICAS - 2025

Red Nacional de Laboratorios de Virus Epstein-Barr (RNL-EBV)

Organizado por el Servicio Virus Oncogénicos - INEI ANLIS Malbrán, Laboratorio Nacional de Referencia de Virus Epstein-Barr (LNR-EBV).

Laboratorios participantes:

- Hospital Muñiz (C.A.B.A.)
- Hospital Escuela Eva Perón (Santa Fé)
- CEMIC (C.A.B.A.)
- CEMAR (Santa Fé)
- Laboratorio central de redes y programas de la provincia de Corrientes (Corrientes)
- LEBYM (Entre Ríos)
- Hospital Regional Ushuaia (Tierra del Fuego)
- Hospital Durand (C.A.B.A.)
- Hospital Zonal Bariloche "Ramón Carrillo" (Río Negro)
- Hospital Público Materno Infantil (Salta)
- Hospital Prof. A. Posadas. (Bs. As.)
- Hospital Garrahan (C.A.B.A.)
- Centro de Tecnología en Salud Pública (Santa Fé)
- Laboratorio Centro Diagnóstico Rossi (C.A.B.A.)
- Clínica Dr. Roberto Raña (Neuquén)
- Hospital de alta complejidad (Formosa)
- Hospital de Niños R. Gutiérrez. (C.A.B.A.)
- Laboratorio Central- Subsecretaría de Salud de Neuquén (Neuquén)
- Hospital Pediátrico "Avelino L. Castelán" (Chaco)
- Hospital Interzonal General de Agudos "Profesor Dr. Rodolfo Rossi" (Bs. As.)
- Laboratorio CIBIC (Santa Fé)
- Departamento Laboratorio Central (Córdoba)
- Hospital Italiano de Buenos Aires. (C.A.B.A.)
- IACA Laboratorios (Bs. As.)
- Laboratorio Central de Referencia de la Provincia de Santa Fé (Santa Fé)
- Hospital de Niños Dr. Orlando Alassia (Santa Fé)
- Swiss Medical Group (C.A.B.A.)
- Hospital Artémides Zatti (Río Negro)
- Hospital El Cruce (Bs. As.)

“Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV”

- LACMI- Laboratorio de alta complejidad Misiones (Misiones)
- Laboratorio de Salud Pública de Tucumán (Tucumán)
- Laboratorio Central de Epidemiología (La Pampa)
- Hospital Privado Universitario de Córdoba (Córdoba)
- Hospital Pediátrico Humberto Notti (Mendoza)
- Hospital Universitario Austral (Bs. As.)
- Hospital Británico de Buenos Aires (C.A.B.A.)
- Laboratorio Central de Redes y Programas, Área Microbiología Molecular (Corrientes)
- Hospital Dr. Marcial V. Quiroga (San Juan)
- HIGA Dr. José Penna. Laboratorio (Bs. As.)
- Hospital Dr. Julio C. Perrando (Chaco)
- Hospital Pedro de Elizalde (C.A.B.A.)

El LNR-EBV y la Plataforma de Evaluación de Métodos de Diagnóstico y Estadística Aplicada, INEI-ANLIS Malbrán, realizaron el diseño del estudio y el análisis de los resultados.

El Centro Nacional de Redes de Laboratorio - ANLIS Malbrán (CNRL) realizó el envío de los paneles de muestras clínicas.

1. OBJETIVO

En el marco de la RNL-EBV, los objetivos de este estudio fueron:

- Describir la variabilidad inter-laboratorio de la carga de EBV expresada en Log copias/ml y/o Log UI/ml.
- Analizar el desempeño de los laboratorios para determinar la carga de EBV en diferentes muestras clínicas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Aceptaron participar del estudio, 43 laboratorios de la RNL-EBV pertenecientes a 18 provincias más C.A.B.A., los cuales recibieron paneles de Plasma (n=7 muestras), Sangre Entera (n=7 muestras) y/o LCR (n=7 muestras), según uso habitual de cada participante: Paneles de plasma (35 laboratorios), Paneles de sangre entera (17 laboratorios) y paneles de LCR (37 laboratorios). Asimismo, se incluyó un instructivo describiendo el contenido y las indicaciones de procesamiento.

2.1. Muestras clínicas

Para preparar las muestras clínicas se utilizó como matriz plasma (PL) o sangre entera (SE), de origen humano, en las que no se había detectado ADN de EBV y una matriz sintética de LCR; todas ellas fueron adicionadas con un conservante de ADN. Se prepararon 5 alícuotas de cada

“Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV”

matriz de PL y SE: a una alícuota no se le agregó ADN de EBV, mientras que a las restantes 4 se les adicionaron diferentes cantidades de ADN viral. Cabe señalar, que dos de las alícuotas a las que se les añadió EBV, se utilizaron para generar 2 pares de muestras idénticas entre sí (PL-1 / PL-6 y PL-5 / PL-7; SE-D / SE-F y SE-C / SE-E).

Además, se prepararon 5 alícuotas de la matriz LCR: a una alícuota no se le agregó ADN de EBV, mientras que a las restantes 4 se les adicionaron diferentes cantidades de ADN viral. Cabe señalar, que una de las alícuotas a las que se les añadió EBV, se utilizó para generar 2 pares de muestras idénticas entre sí (LCR-2 / LCR-6 y LCR-3 / LCR-7).

Cada una de las alícuotas preparadas fueron homogeneizadas y fraccionadas de a 1 ml por tubo. La composición de los 3 paneles se resume en la tabla 1.

Tabla 1: Composición del panel de muestras

Nombre	ADN-EBV (línea celular B95.8)	Matriz	Replicados
PL-1, PL-2, PL-4, PL-5, PL-6, PL-7	Distintas cantidades	Plasma	PL-1/PL-6 PL-5/PL-7
PL-3	No contiene	Plasma	N/A
SE-A, SE-C, SE-D, SE-E, SE-F, SE-G	Distintas cantidades	Sangre entera	SE-C/SE-E SE-D/SE-F
SE-B	No contiene	Sangre entera	N/A
LCR-1, LCR-2, LCR-3, LCR-4, LCR-6, LCR-7	Distintas cantidades	Sintética	LCR-2/LCR-6 LCR-3/LCR-7
LCR-5	No contiene	Sintética	N/A

N/A: No aplica

2.2. Procesamiento e informe de resultados

Se solicitó que las muestras incluidas de los paneles fueran analizadas aplicando los procedimientos de detección y cuantificación de EBV habituales de cada laboratorio. Se requirió completar un formulario electrónico informando los resultados obtenidos expresados en copias/ml y/o en UI/ml.

“Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV”

2.3. Análisis de datos

2.3.1. Variabilidad inter-laboratorio

- Análisis cualitativo

Se realizó un análisis cualitativo a través de la determinación de la frecuencia de detección de EBV y se determinó un score aplicando un sistema de puntuación basado en la frecuencia de detección de la muestra, según:

Estado de la muestra	Resultados participantes		
	Negativo	No determinado	Positivo
Frecuentemente detectado	3	3	0
Detectado	2	2	0
Infrecuentemente detectado	1	1	0
Negativo	0	3	3

Frecuentemente detectado: más del 95% del conjunto de datos registraron un resultado positivo correcto.

Detectado: entre el 65 % y el 95 % del conjunto de datos registraron un resultado positivo correcto.

Infrecuentemente detectado: menos del 65% de los conjuntos de datos registraron el resultado positivo correcto.

Negativo: una muestra de panel que no contiene ADN viral y produce un resultado negativo.

Score 0: altamente satisfactorio; score 3: altamente insatisfactorio.

- Análisis cuantitativo

Se estimaron y graficaron para cada muestra correspondiente a los respectivos paneles de plasma, sangre entera y LCR: la carga viral media, CVM (promedio de los resultados informados por todos los participantes, excluyendo los *outliers* o valores atípicos aplicando el test de Tukey); el desvío estándar (DE); el rango de datos excluyendo *outliers* y el rango de datos total.

Asimismo, se asignó un score aplicando un sistema de puntuación basado en la cuantificación de la muestra, según:

Resultado de cada laboratorio	Score
CVM $\pm$ 1DE	0
CVM $\pm$ 2DE	1
CVM $\pm$ 3DE	2
Mayor a CVM $\pm$ 3	3

Los scores cuantitativos se calculan en función de su variación respecto de la CVM estimada para el grupo participante.

“Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV”

Score 0: si el valor cuantitativo informado está dentro de un desvío estándar (DE) de la CVM estimada.

Score 1: si el valor cuantitativo informado está entre uno y dos DE de la CVM estimada.

Score 2: si su valor cuantitativo está entre dos y tres DE de la CVM estimada.

Score 3: si su valor cuantitativo está a más de tres DE de la CVM estimada.

Score 0: altamente satisfactorio; score 3: altamente insatisfactorio.

2.3.2. Variabilidad intra-laboratorio

Para determinar el desempeño de cada laboratorio participante en la cuantificación de EBV se evaluó la diferencia de carga viral informada para las muestras replicadas (PL-1 / PL-6) y (PL-5 / PL-7) o (SE-C / SE-E) y (SE-D / SE-F) o (LCR-2 / LCR-6) y (LCR-3 / LCR-7); y se consideró un desempeño aceptable si esta diferencia se hallaba dentro del rango de carga viral $\pm 0,5$ unidades de logaritmo ($\Delta CV \pm 0,5$ logs).

Se garantiza la confidencialidad de los resultados obtenidos por cada participante.

3. RESULTADOS

3.1. Participantes y métodos

Participaron 41 laboratorios de 16 provincias y C.A.B.A, quienes informaron los resultados en tiempo y forma, y resolvieron: 32 paneles de plasma; 16 paneles de sangre entera y 34 paneles de LCR. Cabe señalar que 2 de los laboratorios que habían solicitado paneles no enviaron sus resultados debido a falta de reactivos.

Entre los participantes, 37 utilizaron ensayos cuantitativos (26 comerciales, 5 artesanales y 6 sin datos), mientras que 4 aplicaron una prueba cualitativa artesanal.

Métodos:

- *Panel de plasma: 32 laboratorios participantes.*

Métodos de detección y cuantificación comerciales (n=23):

Real Star EBV PCR KIT 2.0 (Altona) (n=4), AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 (Altona) (n=3), EBV R-GENE® (Argene) (n=6), EBV ELITE MGB® Kit (Elitech Group) (n= 3), GeneProof™ Epstein-Barr Virus (EBV) PCR Kit (n=4), Cobas® 5800 EBV (Roche) (n= 3).

Cabe aclarar que, 6 laboratorios no informaron el método de cuantificación utilizado.

Métodos de detección cualitativa (n=3):

Entre los participantes, 1 utilizó un método *in-house* y 2 no aclaran el método cualitativo utilizado.

“Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV”

- Panel de sangre entera: 16 laboratorios participantes

Métodos de detección y cuantificación comerciales (n=10):

Abbott RealTime EBV (Abbott) (n=1), Real Star EBV PCR KIT 2.0 (Altona) (n=1), AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 (Altona) (n=2), EBV R-GENE® (Argene) (n=3), EBV ELITE MGB® Kit (Elitech Group) (n=2), GeneProof™ Epstein-Barr Virus (EBV) PCR Kit (n=1).

Cabe aclarar que, 2 laboratorios utilizaron una metodología *in-house* y 2 laboratorios no informaron el método de cuantificación utilizado.

Métodos de detección cualitativos (n=2):

Los dos participantes utilizaron un método *in-house*.

- Panel de LCR: 34 laboratorios participantes

Métodos de detección y cuantificación comerciales (n=24):

Abbott RealTime EBV (Abbott) (n=1), Real Star EBV PCR KIT 2.0 (Altona) (n=2), AltoStar® EBV PCR Kit 1.5 (Altona) (n=4), EBV R-GENE® (Argene) (n=7), EBV ELITE MGB® Kit (Elitech Group) (n= 3), GeneProof™ Epstein-Barr Virus (EBV) PCR Kit (n=4), Cobas® 5800 EBV (Roche) (n=2), Ingenius (n=1).

Cabe aclarar que, 1 participante utilizó una metodología *in-house* y que 5 laboratorios no informaron el método de cuantificación utilizado.

Métodos de detección cualitativos (n= 4):

Entre los participantes, 2 utilizaron un método *in-house* y 2 no aclaran el método cualitativo utilizado.

3.2. Variabilidad inter-laboratorio

3.2.1. Análisis cualitativo

Los resultados cualitativos sobre los paneles de plasma, sangre entera y LCR se muestran en las Tablas 2, 3 y 4, respectivamente.

“Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV”

Tabla 2. Resultados sobre los paneles de plasma

Muestra	Frecuencia de detección del grupo participante	Resultado de su laboratorio	Score
PL-1	94% (30/32)	NA	NA
PL-2	100% (32/32)	NA	NA
PL-3	0% (0/32)	NA	NA
PL-4	97% (31/32)	NA	NA
PL-5	100% (32/32)	NA	NA
PL-6	90% (29/32)	NA	NA
PL-7	100% (32/32)	NA	NA

PL: plasma

Tabla 3. Resultados sobre los paneles de sangre entera

Muestra	Frecuencia de detección del grupo participante	Resultado de su laboratorio	Score
SE-A	81% (13/16)	No detectable	2
SE-B	19% (3/16)	No detectable	0
SE-C	100% (16/16)	Detectable	0
SE-D	94% (15/16)	Detectable	0
SE-E	100% (16/16)	Detectable	0
SE-F	88% (14/16)	Detectable	0
SE-G	100% (16/16)	Detectable	0

SE: sangre entera

Tabla 4. Resultados sobre los paneles de LCR

Muestra	Frecuencia de detección del grupo participante	Resultado de su laboratorio	Score
LCR-1	100% (34/34)	NA	NA
LCR-2	100% (34/34)	NA	NA
LCR-3	100% (34/34)	NA	NA
LCR-4	97% (33/34)	NA	NA
LCR-5	3% (1/34)	NA	NA
LCR-6	100% (34/34)	NA	NA
LCR-7	94% (32/34)	NA	NA

LCR: Líquido cefalorraquídeo

3.2.2 Análisis cuantitativo

El análisis cuantitativo de los resultados de carga de EBV medidas por los laboratorios participantes sobre los paneles de plasma, sangre entera y LCR expresados en copias/ml y/o UI/ml, se describen en las Tablas 5, 6 y 7, y las Figuras 1, 2 y 3.

"Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV"

Tabla 5. Resultados sobre los paneles de plasma (N=32*)

Muestra	CVM (Log copias/ml)	1 DE	Su laboratorio (Log copias/ml)	Score	CVM (Log UI/ml)	1 DE	Su laboratorio (Log UI/ml)	Score
PL-1	3,28	0,31	NA	NA	3,42	0,41	NA	NA
PL-2	4,01	0,34	NA	NA	4,12	0,52	NA	NA
PL-4	3,01	0,37	NA	NA	3,21	0,58	NA	NA
PL-5	5,23	0,32	NA	NA	5,34	0,48	NA	NA
PL-6	3,15	0,43	NA	NA	3,34	0,54	NA	NA
PL-7	5,18	0,33	NA	NA	5,32	0,44	NA	NA

CVM: carga viral media; 1 DE: un desvío estándar; NA: No aplica; ND: No detectable

*De los 32 participantes 29 informaron resultados cuantitativos

Tabla 6. Resultados sobre los paneles de sangre entera (N=16*)

Muestra	CVM (Log copias/ml)	1 DE	Su laboratorio (Log copias/ml)	Score	CVM (Log UI/ml)	1 DE	Su laboratorio (Log UI/ml)	Score
SE-A	2,99	0,12	ND	NA	3,23	0,24	ND	NA
SE-C	5,33	0,21	5,20	0	5,51	0,20	5,47	0
SE-D	3,28	0,23	3,22	0	3,61	0,28	3,50	0
SE-E	5,10	0,26	5,09	0	5,48	0,14	5,37	0
SE-F	3,36	0,17	3,43	0	3,62	0,26	3,71	0
SE-G	3,86	0,49	3,78	0	4,22	0,29	4,05	0

CVM: carga viral media; 1 DE: un desvío estándar; NA: No aplica; ND: No detectable

*De los 16 participantes 14 informaron resultados cuantitativos.

Tabla 7. Resultados sobre los paneles de LCR (N=34*)

Muestra	CVM (Log copias/ml)	1 DE	Su laboratorio (Log copias/ml)	Score	CVM (Log UI/ml)	1 DE	Su laboratorio (Log UI/ml)	Score
LCR-1	3,92	0,30	NA	NA	3,96	0,59	NA	NA
LCR-2	3,32	0,30	NA	NA	3,34	0,71	NA	NA
LCR-3	5,36	0,29	NA	NA	5,39	0,51	NA	NA
LCR-4	2,97	0,44	NA	NA	3,12	0,83	NA	NA
LCR-6	3,37	0,28	NA	NA	3,44	0,67	NA	NA
LCR-7	5,31	0,32	NA	NA	5,33	0,44	NA	NA

CVM: carga viral media; 1 DE: un desvío estándar; NA: No aplica; ND: No detectable

*De los 34 participantes 30 informaron resultados cuantitativos.

"Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV"

Referencias de figuras:



Figura 1. Variabilidad inter-laboratorio de la carga de EBV medida en paneles de plasma

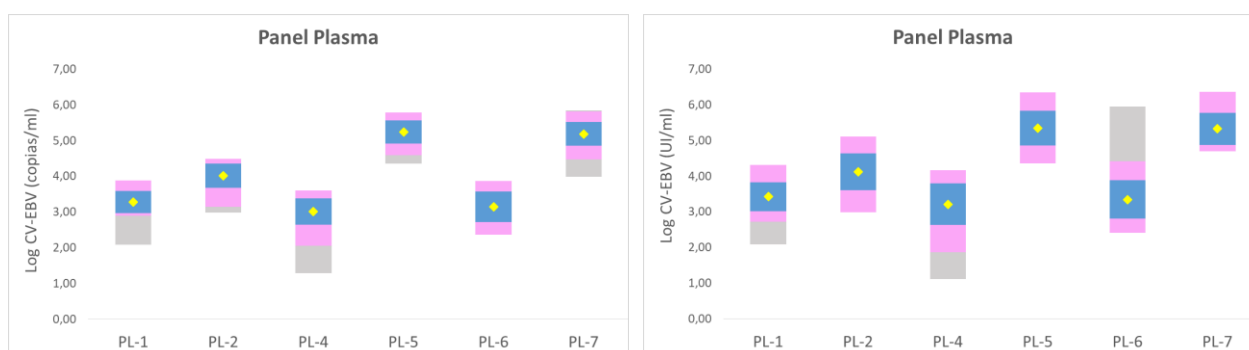


Figura 2. Variabilidad inter-laboratorio de la carga de EBV medida en paneles de sangre entera.

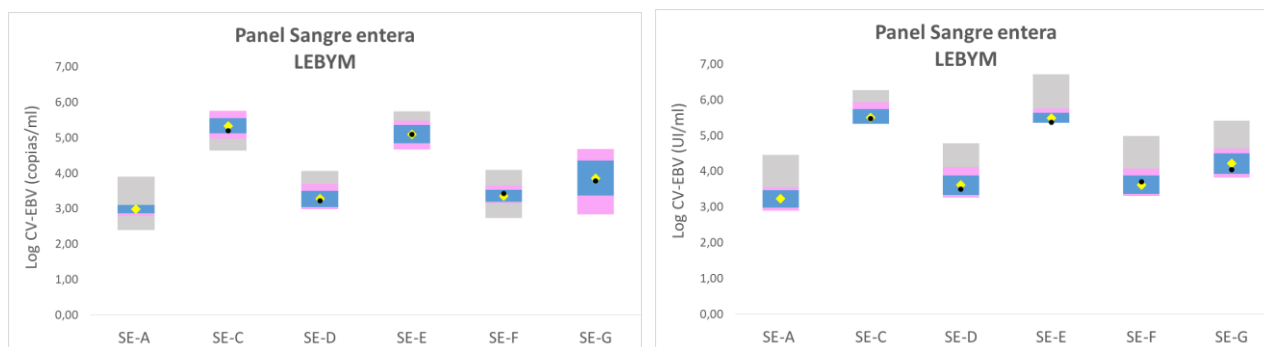
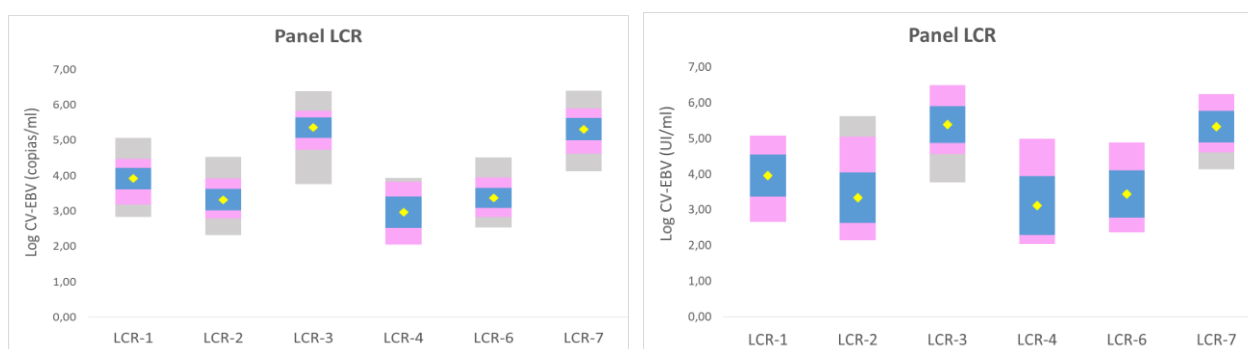


Figura 3. Variabilidad inter-laboratorio de la carga de EBV medida en paneles de LCR.



“Hacia un consenso nacional sobre el diagnóstico de laboratorio de la infección por EBV”

3.3. Variabilidad intra-laboratorio

La Tabla 1 muestra el análisis de la variabilidad intra-laboratorio correspondiente a su laboratorio

Tabla 1. Diferencia entre las cargas virales de las muestras replicadas

i. Panel Plasma

Muestras replicadas	Δ CV su laboratorio (Log copias/ml)	Dentro de rango Δ CV $\pm$ 0,5logs (copias/ml)	Δ CV su laboratorio (Log UI/ml)	Dentro de rango Δ CV $\pm$ 0,5logs (UI/ml)
PL 1 - PL 6	NA	NA	NA	NA
PL 5 - PL 7	NA	NA	NA	NA

Δ CV: Diferencia de carga viral. NA: No aplica

ii. Panel Sangre entera

Muestras replicadas	Δ CV su laboratorio (Log copias/ml)	Dentro de rango Δ CV $\pm$ 0,5logs (copias/ml)	Δ CV su laboratorio (Log UI/ml)	Dentro de rango Δ CV $\pm$ 0,5logs (UI/ml)
SE D - SE F	0,2	SI	0,2	SI
SE C - SE E	0,1	SI	0,1	SI

Δ CV: Diferencia de carga viral. NA: No aplica

iii. Panel LCR

Muestras replicadas	Δ CV su laboratorio (Log copias/ml)	Dentro de rango Δ CV $\pm$ 0,5logs (copias/ml)	Δ CV su laboratorio (Log UI/ml)	Dentro de rango Δ CV $\pm$ 0,5logs (UI/ml)
LCR 2 – LCR 6	NA	NA	NA	NA
LCR 3 – LCR 7	NA	NA	NA	NA

Δ CV: Diferencia de carga viral. NA: No aplica