

CONTROL DE CALIDAD DE VIROLOGÍA (V-1/10)

En el presente control se envió a los distintos laboratorios participantes una muestra de heces procedente del paciente que se comenta en la historia clínica. Se trataba de una niña de dos años de edad, que fue llevada a su pediatra por presentar, desde hacía dos días, un cuadro de diarrea con 6 deposiciones al día, acompañado de pérdida del apetito y cierta sensación nauseosa. El pediatra recogió una muestra de heces que fue remitida al servicio de Microbiología para realización de estudio virológico y bacteriológico. Este último fue negativo a las 48 horas. Se solicitó a los participantes la **identificación del virus** presente en la muestra, así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos.

En total, se enviaron 79 cuestionarios y muestras a los distintos laboratorios, de los que 59 remitieron hoja de respuesta, siendo el porcentaje de participación real en este control del 74,7%.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

De los 59 centros que emitieron hoja de respuesta resultados evaluables, 16 (27,1%) llegaron a la identificación del virus objeto del control. El virus remitido fue identificado como un Norovirus genogrupo 1 (familia *Caliciviridae*), mediante una técnica de PCR múltiple, por el laboratorio que actuó como centro de referencia. En total, se informaron 33 determinaciones para Norovirus y 4 para Calicivirus, lo que supone un total de 37. De ellas, 17 fueron positivas (45,9%). Dos de los centros realizaron dos métodos distintos para la detección de Norovirus, uno de ellos empleó una PCR para Calicivirus y una técnica de secuenciación, con resultado positivo en ambas; y el otro realizó una inmunocromatografía y un enzimoimmunoensayo para este virus, pero con los dos resultados negativos.

Por lo que respecta a las detecciones de Rotavirus y de Adenovirus fueron realizadas por la mayoría de los participantes, consignando todos ellos un resultado negativo, coincidente con el de referencia. Además, algunos participantes realizaron detecciones frente a otros virus entéricos (astrovirus, enterovirus, etc.). Todos estos datos se señalan en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación virológica sobre el total de pruebas para cada virus.

Virus	Positivo	Negativo	Resultado de referencia	Porcentaje coincidente	Total pruebas
Norovirus	17	20	Positivo	45,9%	37
Adenovirus	–	61	Negativo	100,0%	61
Rotavirus	–	53	Negativo	100,0%	53
Astrovirus	1	24	Negativo	96,0%	25
Bocavirus	–	5	NR	–	5
Enterovirus	1	4	NR	–	5
Coronavirus	–	2	NR	–	2

NR: no realizado.

En cuanto a los métodos utilizados en la identificación de Norovirus, los participantes emplearon técnicas de PCR (incluyendo la RT-PCR convencional y la PCR a tiempo real), PCR seguida de secuenciación, o bien una técnica rápida de inmunocromatografía (IC) y/o de enzimoimmunoanálisis (EIA). Curiosamente, todos los centros que realizaron una técnica de IC ó EIA para la detección de Norovirus obtuvieron un resultado negativo (excepto un centro que derivó la muestra a su laboratorio de referencia y que informó un resultado positivo mediante un EIA). En cambio, la PCR fue positiva en 12 de los 18 laboratorios (66,7%) que la realizaron y, en el caso de los tres centros que realizaron una secuenciación, todos identificaron correctamente el virus. Estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Norovirus	Adenovirus	Rotavirus	Astrovirus	Enterovirus	Bocavirus	Coronavirus
PCR	12	9	2	8	1	5	2
Inmunocromatografía	10	43	43	12	–	–	–
PCR tiempo real	6	1	–	–	2	–	–
Enzimoimmunoanálisis	5	2	3	3	–	–	–
Secuenciación	3	–	–	–	–	–	–
Agglutinación látex	–	2	3	–	–	–	–
Cultivo celular	–	2	–	–	2	–	–
No informa	1	2	2	2	–	–	–
Total	37	61	53	25	5	5	2

Por lo que respecta a las marcas comerciales utilizadas en la identificación, todos los participantes que informan marca y realizaron inmunocromatografía para el estudio de norovirus, emplearon el Rida Quick® de Biopharm, con resultado negativo todos ellos. Los que realizaron un EIA para este virus usaron los equipos de Biopharm o de Oxoid, también con resultado negativo todos ellos. Sin embargo, se obtuvieron buenos resultados con la PCR múltiple

de Seeplex ACE (Seegene) y con la PCR a tiempo real de Cepheid y la de Biopharm (Rida Gene®). Tres centros realizaron un estudio de secuenciación. Adicionalmente, la mayoría de participantes realizaron la detección de Rotavirus y Adenovirus principalmente con una técnica de IC, siendo los reactivos más usados los de bioMérieux y Operon. Estos datos se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Relación de métodos y marcas comerciales utilizadas.

Método y Marca	Norovirus		Adenovirus	Rotavirus	Astrovirus	Enterovirus	Otros ^a	Total
	Técnicas realizadas	Técnicas positivas						
Inmuncromatografía								
Rida Quick® (Biopharm)	9	0	2	2	–	–	–	13
VIKIA Rota-Adeno (bioMérieux)	–	–	10	10	–	–	–	20
Operon	–	–	8	8	–	–	–	16
CerTest (Biotec)	–	–	5	6	7	–	–	18
Coris Bioconcept	–	–	5	4	–	–	–	9
BioKit	–	–	3	3	–	–	–	6
Leti	–	–	3	3	2	–	–	8
Combo-Strip (Real, Oxoid)	–	–	2	2	–	–	–	4
BLK	–	–	1	1	–	–	–	2
Immunocard® (Meridian)	–	–	1	1	–	–	–	2
Innogenetics	–	–	1	1	–	–	–	2
Astrovirus - Quick Check (Ral)	–	–	–	–	3	–	–	3
No informa	1	0	2	2	–	–	–	5
Enzimoimmunoanálisis								
IDEIA® (Oxoid)	2	0	1	1	–	–	–	4
Ridascreen® (Biopharm)	2	0	–	1	–	–	–	3
ProSpecT (Oxoid)	–	–	–	1	3	–	–	4
Adenoclone® (Meridian)	–	–	1	–	–	–	–	1
No informa	1	1	–	–	–	–	–	1
PCR								
Seeplex ACE (Seegene)	5	4	3	2	4	–	–	14
Desarrollo propio	5	3	4	–	3	–	2	14
No informa	2	0	2	–	1	1	5	11
PCR a tiempo real								
Cepheid	3	3	–	–	–	1	–	4
Light Cycler (Roche)	1	0	1	–	–	1	–	3
Rida Gene® (Biopharm)	1	1	–	–	–	–	–	1
Desarrollo propio	1	1	–	–	–	–	–	1
PCR-Secuenciación								
	3	3	–	–	–	–	–	3
Aglutinación látex								
bioMérieux	–	–	–	1	–	–	–	1
No informa	–	–	2	2	–	–	–	4
Cultivo celular								
	–	–	2	–	–	2	–	4
No informa	1	1	2	2	2	–	–	7
TOTAL	37	17	61	53	25	5	7	

^aSe incluyen 5 determinaciones para Bocavirus y 2 determinaciones para Coronavirus.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De las 59 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 49 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 83,0%; mientras que 7 centros afirmaron haberlo empleado (11,9%) y otros 3 sólo lo utilizaron parcialmente (5,1%).

VALORACIÓN GENERAL

En este control, solamente el 27,1% de los participantes llegaron a la identificación del virus remitido. Los centros que emplean técnicas de diagnóstico rápido (IC o EIA) no fueron capaces de detectar Norovirus, en contraposición con los centros que emplearon métodos moleculares de diagnóstico (RT-PCR o en tiempo real específicas frente al virus o una PCR seguida de secuenciación). Por otra parte, ha descendido el porcentaje de centros que remitieron hoja de respuesta evaluable con respecto a controles anteriores de esta índole (del 85,1% en 2008 –en que se remitió una alícuota de heces con Adenovirus- al 74,7% de éste), posiblemente en relación a que la detección de Norovirus es realizada por un menor número de centros que la de Adenovirus y Rotavirus, resaltando que son pocos los participantes inscritos al control de virología que realizan la detección de Astrovirus y Norovirus en las heces.