

## CONTROL DE CALIDAD DE VIROLOGÍA (V-1/14)

En el presente control se envió a los distintos laboratorios participantes una alícuota de heces, resuspendida en agua destilada, procedente del paciente que se comenta en la historia clínica. Se trataba de un niño de 15 meses de edad sin antecedentes patológicos de interés, que era llevado a la consulta de Pediatría por presentar un cuadro de gastroenteritis de aproximadamente una semana de evolución. La madre relataba que el niño presentaba diarrea desde hacía unos cinco días sin vómitos ni fiebre alta, pero con malestar y pérdida del apetito. Al inicio del cuadro, la diarrea era acuosa, pero enseguida pasó a ser una diarrea de heces blandas con una frecuencia de 3-5 deposiciones al día, sin moco ni sangre. En la exploración física, no se apreciaban signos de deshidratación ni resistencia o dolor a la palpación abdominal. Otros niños de su guardería habían presentado síntomas similares en días previos. Se 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 gastrointestinal implicado en este cuadro clínico, así como que formularan los **comentarios** que considerasen oportunos.

En total, se enviaron 91 cuestionarios y muestras a los distintos laboratorios, de los que 80 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real en este control es del 87,9%, superior al del último control de Virología (78,2%), en el que se solicitaba la detección de Adenovirus en un exudado conjuntival. Este porcentaje es también superior al del control V-1/10 (entonces fue del 74,7%), en el que también se remitió una muestra de heces con Norovirus.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

De los 80 centros que remitieron hoja de respuesta con resultados evaluables, fueron cinco (6,3%) los que informaron una detección positiva para Norovirus. El virus remitido fue identificado como un Norovirus genogrupo 2 (familia *Caliciviridae*), mediante una técnica de PCR múltiple (Fast-track Diagnostic), por el laboratorio que actuó como centro de referencia; sin embargo este mismo centro, informó que el resultado de la técnica inmunocromatográfica rápida para detección de Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus y Norovirus fue negativa, por lo que se consideraron aceptables ambas respuestas.

En total se informaron 53 determinaciones para Norovirus y otra para *Calicivirus*, lo que supone un total de 54. De ellas, 5 fueron positivas (9,3%). Cuatro centros realizaron dos métodos distintos para la detección de Norovirus, que eran una inmunocromatografía (IC) junto con un método molecular (que se trataba de una PCR a tiempo real en dos casos, de una PCR seguida de secuenciación en uno y de una prueba de citometría-PCR en otro de los centros).

Por lo que respecta a las detecciones de Rotavirus y de Adenovirus, fueron realizadas por la totalidad de los 80 participantes, consignando todos ellos un resultado negativo, coincidente con el de referencia, con la excepción de dos centros que informaron un resultado positivo para Adenovirus. Uno de estos dos centros realizó una prueba de inmunocromatografía y el otro una PCR a tiempo real. Además, algunos participantes realizaron técnicas frente a otros virus entéricos (Astrovirus, Enterovirus, etc.), obteniendo resultados negativos para todos ellos. 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/Calicivirus | 5        | 49       | Positivo                | 6,3%                   | 54            |
| Adenovirus            | 2        | 90       | Negativo                | 97,8%                  | 92            |
| Rotavirus             | –        | 89       | Negativo                | 100,0%                 | 89            |
| Astrovirus            | –        | 44       | Negativo                | 100,0%                 | 44            |
| Sapovirus             | –        | 5        | Negativo                | 100,0%                 | 5             |
| Enterovirus           | –        | 3        | NR                      | –                      | 3             |

NR: no realizado.

En cuanto a los métodos utilizados en la identificación del Norovirus, los participantes emplearon técnicas de PCR (incluyendo la PCR convencional y la PCR a tiempo real), la PCR seguida de secuenciación, la citometría-PCR, o bien, una técnica rápida de IC o de enzimoanálisis (EIA). Todos los centros que realizaron una técnica de IC o EIA para la detección de Norovirus obtuvieron un resultado negativo, probablemente por la baja presencia de virus en la muestra remitida, y/o por una baja sensibilidad de las técnicas inmunocromatográficas disponibles para diagnóstico de Norovirus. En cambio, la PCR (agrupando la PCR convencional y la PCR a tiempo real) fue informada positiva por 4 de los 20 laboratorios (20,0%) que la realizaron; mientras que el centro restante que obtuvo resultado positivo para Norovirus realizó una PCR seguida de secuenciación. Estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

**Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.**

| Método                    | Norovirus | Adenovirus | Rotavirus | Astrovirus | Sapovirus | Enterovirus |
|---------------------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|-------------|
| Inmunocromatografía       | 30        | 74         | 74        | 30         | –         | –           |
| PCR tiempo real           | 15        | 9          | 8         | 10         | 5         | 2           |
| PCR                       | 5         | 4          | 1         | 2          | –         | 1           |
| Aglutinación látex        | –         | 1          | 2         | –          | –         | –           |
| Citometría-PCR            | 1         | 1          | 1         | –          | –         | –           |
| Cultivo <i>Shell-vial</i> | –         | 1          | –         | –          | –         | –           |
| Enzimoimmunoensayo        | 1         | –          | 1         | 2          | –         | –           |
| Inmunofluorescencia       | –         | 1          | 1         | –          | –         | –           |
| Secuenciación             | 1         | –          | –         | –          | –         | –           |
| No informa                | 1         | 1          | 1         | –          | –         | –           |
| Total                     | 54        | 92         | 89        | 44         | 5         | 3           |

Por lo que respecta a las marcas comerciales utilizadas en la identificación, los participantes que realizaron una prueba de IC para el estudio de Norovirus, emplearon una amplia diversidad de marcas, predominando CerTest® de Biotec y el RIDA®QUICK de Biopharm, consignando un resultado negativo en todas ellas. Respecto a los centros que realizaron una PCR a tiempo real, predominó la PCR múltiple de Fast-track Diagnostic, que detecta Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, Norovirus y Sapovirus. Así, de los 8 centros que utilizaron esta PCR comercial, únicamente 2 (el 20,0%) detectaron Norovirus. De los tres centros restantes que obtuvieron resultados positivos para Norovirus, 2 emplearon una PCR de desarrollo propio y el otro realizó un estudio de secuenciación.

Adicionalmente, la mayoría de participantes realizaron, además, la detección de Rotavirus y Adenovirus, principalmente con una técnica de IC. Para ello hubo un predominio de los reactivos CerTest® de Biotec seguidos del VIKIA® Rota-Adeno de bioMérieux y del RIDA®QUICK de Biopharm. Estos datos se detallan en la tabla 3. Todos los resultados obtenidos para el resto de los virus analizados fueron negativos, a excepción de dos centros que informaron un resultado positivo para Adenovirus, uno de ellos realizado mediante una IC de Alere y el otro con una PCR a tiempo real, sin aportar más información.

**Tabla 3. Relación de métodos y marcas comerciales utilizadas.**

| Método y Marca                 | Norovirus           |                    | Adenovirus | Rotavirus | Astrovirus | Otros <sup>a</sup> | Total |
|--------------------------------|---------------------|--------------------|------------|-----------|------------|--------------------|-------|
|                                | Técnicas realizadas | Técnicas positivas |            |           |            |                    |       |
| Inmunocromatografía            |                     |                    |            |           |            |                    |       |
| CerTest® (Biotec)              | 9                   | –                  | 26         | 27        | 23         | –                  | 85    |
| VIKIA® Rota-Adeno (bioMérieux) | –                   | –                  | 13         | 13        | –          | –                  | 26    |
| RIDA®QUICK (Biopharm)          | 9                   | –                  | 5          | 5         | 1          | –                  | 20    |
| Leti                           | 1                   | –                  | 5          | 5         | 1          | –                  | 12    |
| Operon                         | 1                   | –                  | 5          | 5         | –          | –                  | 11    |
| Materlab                       | 1                   | –                  | 4          | 4         | –          | –                  | 9     |
| Biokit                         | –                   | –                  | 4          | 4         | –          | –                  | 8     |
| Soria Melguizo                 | –                   | –                  | 3          | 3         | 1          | –                  | 7     |
| Monlab                         | –                   | –                  | 3          | 3         | –          | –                  | 6     |
| Bioline (Standard Diagnostics) | 5                   | –                  | –          | –         | –          | –                  | 5     |
| Alere                          | 1                   | –                  | 1          | 1         | 1          | –                  | 4     |
| Spinreact                      | –                   | –                  | 1          | 1         | 1          | –                  | 3     |
| Gernon (RAL, Alere)            | –                   | –                  | –          | –         | 2          | –                  | 2     |
| Real                           | –                   | –                  | 1          | 1         | –          | –                  | 2     |
| Biosynex                       | 1                   | –                  | –          | –         | –          | –                  | 1     |
| Meridian                       | 1                   | –                  | –          | –         | –          | –                  | 1     |
| No informa                     | 1                   | –                  | 3          | 2         | –          | –                  | 6     |
| PCR a tiempo real              |                     |                    |            |           |            |                    |       |
| Fast-track Diagnostic          | 8                   | 2                  | 7          | 7         | 8          | 5                  | 35    |
| Cepheid                        | 2                   | –                  | –          | –         | –          | 1                  | 3     |
| Argene (bioMérieux)            | –                   | –                  | –          | –         | –          | 1                  | 1     |
| Progenie                       | 1                   | –                  | –          | –         | –          | –                  | 1     |
| Rida®Gene (Biopharm)           | 1                   | –                  | –          | –         | –          | –                  | 1     |
| No informa                     | 3                   | –                  | 2          | 1         | 2          | –                  | 8     |
| PCR                            |                     |                    |            |           |            |                    |       |
| Desarrollo propio              | 4                   | 2                  | 3          | 1         | 2          | –                  | 10    |
| No informa                     | 1                   | –                  | 1          | –         | –          | 1                  | 3     |
| Enzimoimmunoanálisis           |                     |                    |            |           |            |                    |       |
| ProSpecT (Oxoid)               | –                   | –                  | –          | –         | 2          | –                  | 2     |
| RIDASCREEN® (Biopharm)         | 1                   | –                  | –          | 1         | –          | –                  | 2     |
| Aglutinación látex             |                     |                    |            |           |            |                    |       |
| Izasa                          | –                   | –                  | 1          | 1         | –          | –                  | 2     |
| bioMérieux                     | –                   | –                  | –          | 1         | –          | –                  | 1     |

|                                                |           |          |           |           |           |          |            |
|------------------------------------------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|------------|
| Citometría-PCR<br>xTAG GPP Luminex             | 1         | –        | 1         | 1         | –         | –        | 3          |
| Inmunofluorescencia<br>Oxoid                   | –         | –        | 1         | 1         | –         | –        | 2          |
| Cultivo <i>Shell-vial</i><br>Light Diagnostics | –         | –        | 1         | –         | –         | –        | 1          |
| PCR-Secuenciación                              | 1         | 1        | –         | –         | –         | –        | 1          |
| No informa                                     | 1         | –        | 1         | 1         | –         | –        | 3          |
| <b>TOTAL</b>                                   | <b>54</b> | <b>5</b> | <b>92</b> | <b>89</b> | <b>44</b> | <b>8</b> | <b>287</b> |

<sup>a</sup>Se incluyen 5 determinaciones para Sapovirus y 3 determinaciones para Enterovirus.

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De las 80 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 76 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 95,0%; mientras que 4 centros sólo lo utilizaron parcialmente (5,0%).

## VALORACIÓN GENERAL

En este control, solo el 6,3% de los participantes informaron que la detección de Norovirus era positiva, y en todos estos casos se empleó una técnica molecular (una PCR convencional o en tiempo real específicas frente al virus, ó bien una PCR seguida de secuenciación). Todos los centros que emplearon técnicas de diagnóstico rápido (IC o EIA) aportaron un resultado negativo para Norovirus. Estos resultados quedan justificados porque la muestra remitida estaba próxima al umbral de detección, por lo que sólo mediante algunas pruebas de PCR pudo detectarse la presencia de este virus.

Por otra parte, como dato positivo destaca el aumento del porcentaje de centros que remitieron hoja de respuesta evaluable con respecto a controles anteriores de ésta índole (del 87,9% del control actual frente al 74,7% del control de 2012, en el que se remitió una alícuota de heces con Rotavirus). Sin embargo, todavía siguen siendo pocos los laboratorios que realizan la detección de Astrovirus y Norovirus en las heces.