

## CONTROL DE CALIDAD DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR (BM-1/14)

En el presente control, se envió a los distintos laboratorios participantes una alícuota de exudado nasofaríngeo resuspendido en medio de transporte de virus, de una paciente de 54 años de edad, con antecedentes de obesidad mórbida y diabetes mellitus tipo II, que fue remitida al Servicio de Urgencias de su hospital de área por presentar un cuadro de insuficiencia respiratoria aguda desde hacía unas horas de evolución. La paciente había presentado desde hacía tres días un cuadro de malestar general con fiebre de hasta 38,5° C, artromialgias, rinorrea, disnea a medianos esfuerzos y tos con expectoración. En las últimas 24 h y a pesar del inicio del tratamiento con amoxicilina-clavulánico, la paciente había sufrido un agravamiento importante de su estado, con aumento de la disnea que era evidente en reposo. Dado los bajos niveles de saturación de oxígeno, se decidió su ingreso en el hospital a la vez que se tomó una muestra de aspirado nasofaríngeo que fue remitido al servicio de Microbiología para determinación urgente de virus respiratorios.

Se solicitó a los participantes la **detección del genoma** del virus de la gripe (**Influenza A y B**) mediante PCR, así como que formularsen los comentarios que considerasen oportunos.

El laboratorio que actuó como centro de referencia informó que la muestra era positiva para el virus Influenza A y negativa para el virus Influenza B mediante la realización de dos sistemas comerciales diferentes: una PCR *real-time* con el reactivo Simplexa® FLU A/B/RSV (Focus Diagnostics) y una amplificación isotérmica con el reactivo Influenza A & B (Alere). Asimismo, este laboratorio realizó el subtipado para gripe A mediante una PCR *real-time* de elaboración propia, obteniendo un resultado positivo para gripe A (H1N1) pandémica 2009.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DEL GENOMA DE VIRUS INFLUENZA A

La muestra de exudado nasofaríngeo fue enviada a 91 laboratorios de los que 86 (94,5%) remitieron hoja de respuesta. De ellos, dos centros informaron que en su laboratorio únicamente se realizaba esta determinación durante la temporada de gripe, por lo que en realidad fueron 84 los centros que aportaron resultados valorables, siendo el porcentaje de participación real del 92,3%. Este porcentaje es superior al del control de Microbiología Molecular de 2013 que fue del 72,4% (en éste se solicitaba la detección del genoma de virus de Epstein Barr en una alícuota de plasma).

En total, se realizaron 86 determinaciones, ya que dos centros emplearon dos sistemas moleculares diferentes para realizar esta prueba. La detección del genoma de virus Influenza A resultó positiva en 83 de las 86 determinaciones (96,5%), resultado concordante con el del centro de referencia, mientras que las tres determinaciones restantes se informaron como negativas. No obstante, dos de estos tres centros que informaron un resultado negativo para virus Influenza A, sí fueron capaces de detectar virus Influenza A (H1N1) en la muestra, con lo que podría tratarse de un error de transcripción.

De las 86 determinaciones efectuadas, 74 se hicieron por PCR a tiempo real (86,0%), mientras que las 12 restantes se hicieron por otros métodos moleculares. Respecto a la PCR a tiempo real, hubo un predominio del equipo GeneXpert de Cepheid, seguido de los reactivos RealCycler, de Progenie, usados estos con el equipo SmartCycler. La totalidad de métodos y marcas empleadas se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1. Métodos y marcas utilizados en la detección de genoma del virus influenza A.**

Método	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)
PCR <i>real-time</i>	GeneXpert (Cepheid, Izasa)	27 (31,5)	26 (96,3)
	RealCycler (Progenie)	8 (9,3)	8 (100,0)
	Roche	7 (8,2)	6 (85,7)
	Anyplex (Seegene)	6 (7,0)	6 (100,0)
	LightCycler (Roche)	6 (7,0)	6 (100,0)
	Fast-Track (Izasa)	4 (4,7)	4 (100,0)
	Argene (bioMérieux)	3 (3,5)	3 (100,0)
	Simplexa (Focus)	2 (2,3)	2 (100,0)
	RealStar (Altona)	2 (2,3)	1 (50,0)
	Applied Biosystems	1 (1,1)	1 (100,0)
	Artus (Qiagen)	1 (1,1)	1 (100,0)
	Prodesse ProFAST	1 (1,1)	1 (100,0)
	Desarrollo propio	4 (4,7)	4 (100,0)
	No informada	2 (2,3)	2 (100,0)
<i>Microarray</i>	CLART (Genómica)	7 (8,2)	7 (100,0)
Amplificación isotérmica	Alere	2 (2,3)	2 (100,0)
Citometría PCR	Luminex	2 (2,3)	2 (100,0)
PCR	Desarrollo propio	1 (1,1)	1 (100,0)
Total		86 (100,0)	83 (96,5)

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DEL GENOMA DE VIRUS INFLUENZA B

La detección del ARN del virus Influenza B fue realizada por 77 de los 84 centros que enviaron hoja de respuesta con datos analizables (91,7%). Un centro realizó dos pruebas moleculares diferentes con lo que se analizaron 78 determinaciones. Todas ellas (el 100,0%) obtuvieron un resultado negativo, coincidiendo con el centro de referencia.

Como ya sucedía con la determinación anterior, el método mayoritariamente empleado fue la PCR a tiempo real y, dentro de este grupo, de nuevo, hubo un predominio del equipo GeneXpert de Cepheid. Estos datos se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2. Métodos y marcas utilizados en la detección de genoma del virus Influenza B.**

Método	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)
PCR <i>real-time</i>	GeneXpert (Cepheid, Izasa)	27 (34,6)	27 (100,0)
	RealCycler (Progenie)	8 (10,3)	8 (100,0)
	Anyplex (Seegene)	6 (7,7)	6 (100,0)
	Fast-Track (Izasa)	4 (5,1)	4 (100,0)
	Argene (bioMérieux)	3 (3,8)	3 (100,0)
	LightCycler (Roche)	3 (3,8)	3 (100,0)
	RealStar (Altona)	2 (2,6)	2 (100,0)
	Roche	2 (2,6)	2 (100,0)
	Simplexa (Focus)	2 (2,6)	2 (100,0)
	Applied Biosystems	1 (1,2)	1 (100,0)
	Desarrollo propio	6 (7,7)	6 (100,0)
	No informada	2 (2,6)	2 (100,0)
<i>Microarray</i>	CLART (Genómica)	7 (9,0)	7 (100,0)
Amplificación isotérmica	Alere	2 (2,6)	2 (100,0)
Citometría PCR	Luminex	2 (2,6)	2 (100,0)
PCR	Desarrollo propio	1 (1,2)	1 (100,0)
Total		78 (100,0)	78 (100,0)

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DEL GENOMA DE VIRUS INFLUENZA A (H1N1)

La detección específica del virus Influenza A (H1N1) fue informada por 70 de los 84 centros con respuestas evaluables (83,4%). Dos de los participantes realizaron esta prueba con dos sistemas moleculares diferentes, con lo que hubo 72 determinaciones. Todos ellos (100,0%) obtuvieron un resultado positivo, coincidiendo con el centro de referencia.

De nuevo, el método predominante fue la PCR a tiempo real y, dentro de este grupo, el sistema comercial más empleado fue el GeneXpert de Cepheid. Todos estos datos se detallan en la tabla 3.

**Tabla 3. Métodos y marcas utilizados en la detección de genoma del virus Influenza A (H1N1).**

Método	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)	
PCR <i>real-time</i>	GeneXpert (Cepheid, Izasa)	27 (37,5)	27 (100,0)	
	LightCycler (Roche)	8 (11,1)	8 (100,0)	
	Fast-Track (Izasa)	5 (7,0)	5 (100,0)	
	Roche	4 (5,6)	4 (100,0)	
	Anyplex (Seegene)	2 (2,8)	2 (100,0)	
	Applied Biosystems	2 (2,8)	2 (100,0)	
	Artus (Qiagen)	2 (2,8)	2 (100,0)	
	RealStar (Altona)	2 (2,8)	2 (100,0)	
	Prodesse ProFAST	1 (1,3)	1 (100,0)	
	RealCycler (Progenie)	1 (1,3)	1 (100,0)	
	Simplexa (Focus)	1 (1,3)	1 (100,0)	
	Desarrollo propio	4 (5,6)	4 (100,0)	
	No informada	3 (4,2)	3 (100,0)	
	<i>Microarray</i>	CLART (Genómica)	7 (9,8)	7 (100,0)
	Citometría PCR	Luminex	1 (1,3)	1 (100,0)
PCR	Desarrollo propio	2 (2,8)	2 (100,0)	
Total		72 (100,0)	72 (100,0)	

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de uso de un laboratorio externo de referencia para la realización de las pruebas solicitadas, de los 84 centros que realizaron alguna técnica molecular para la detección de gripe, 80 (95,2%) afirmaron no haberlo empleado, mientras que los 4 laboratorios restantes indicaron que sí lo utilizaron (4,8%), uno de ellos parcialmente.

## COMENTARIOS

Quince centros comentaron que la paciente tenía una infección por el virus Influenza A (H1N1) pandémico del 2009. Tres centros comentaron que realizaron, además, un cultivo celular en MDCK con resultado positivo para Influenza A. Otros tres centros recomendaban tratamiento con oseltamivir.