

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE VIROLOGÍA CONTROL V-1/15

### INTRODUCCIÓN

En el presente control, se envió a los distintos laboratorios participantes una alícuota de exudado nasofaríngeo resuspendido en medio de transporte de virus, procedente del paciente que se comenta en la historia clínica. Se trataba de un paciente varón de 87 años de edad que fue llevado a urgencias de su hospital por un cuadro de dificultad respiratoria, fiebre de 38,5°C y tos productiva. Los familiares que lo acompañaban, relataban que los síntomas habían comenzado de forma súbita hacía cuatro días, presentando escalofríos, artromialgias, fiebre de 37,5°C y rinorrea. En las últimas 24 horas, se había producido deterioro importante del estado general del paciente, objetivándose distrés respiratorio con roncus y sibilantes a la auscultación pulmonar, así como área de consolidación en la radiografía de tórax. Se tomó, entre otras, una muestra de exudado nasofaríngeo que se remitió al laboratorio de Microbiología para estudio de virus respiratorios.

Se solicitó a los participantes la **detección de virus Influenza A y B**, así como que formularan los comentarios y sugerencias que consideraran oportunos.

El laboratorio que actuó como centro de referencia informó que la muestra remitida era positiva para el virus Influenza A y negativa para el virus Influenza B mediante la realización de una PCR *real-time* con el reactivo GeneXpert® (Cepheid). Asimismo, el laboratorio de referencia realizó el subtipado para gripe A mediante una PCR *real-time* de elaboración propia, obteniendo un resultado positivo para el virus Influenza A subtipo H3.

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS EN VIROLOGÍA

En total, se enviaron 93 cuestionarios y muestras a los distintos laboratorios, de los que 87 remitieron hoja de respuesta, todos ellos excepto uno con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real en este control fue del 92,5%, similar al del último control de Virología (94,5%), en el que se remitió una alícuota de heces para la detección de virus intestinales.

De los 86 participantes que emitieron hoja de respuesta con resultados evaluables, 84 informaron el virus Influenza A, mientras que otro centro respondió virus Influenza sin especificar el tipo, ya que su PCR a tiempo real no diferenciaba el tipo A del tipo B. Así, 85 de los 86 centros que respondieron (98,8%) llegaron a la identificación del virus objeto del control, mientras que el centro restante no fue capaz de detectar ningún virus.

Los 86 participantes con respuestas evaluables informaron un total de 89 determinaciones para virus Influenza A, ya que cuatro centros realizaron esta prueba mediante dos sistemas comerciales diferentes, mientras que otro centro, como se acaba de comentar, realizó una PCR a tiempo real genérica de gripe. De estas 89 determinaciones, la práctica totalidad de las mismas (87, el 97,8%) resultaron positivas, coincidiendo con el laboratorio de referencia.

Adicionalmente, 82 de los 86 participantes (95,4%) llevaron a cabo, además, la determinación del virus Influenza B. Tres centros realizaron esta prueba con dos sistemas comerciales diferentes, con lo que hubo 85 determinaciones. La práctica totalidad de las mismas (84, el 98,8%) fueron negativas, resultado coincidente con el de referencia. El resultado discrepante se trataba de un centro que informó como positivos tanto la detección del virus Influenza A como la del virus Influenza B.

Respecto al subtipado del virus Influenza A, 44 centros efectuaron la detección del subtipo H1, de los cuales 43 (97,7%) obtuvieron un resultado negativo, coincidiendo con el centro de referencia. La detección del subtipo H3 fue realizada por 27 de los centros, resultando positiva en todos ellos (el 100%), en concordancia con el resultado de referencia. Todos estos datos se muestran en la tabla 1.

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

Virus	Positivo	Negativo	Resultado de referencia	Porcentaje coincidente	Total pruebas
Virus Influenza A	87	2	Positivo	97,8%	89
Virus Influenza B	1	84	Negativo	98,8%	85
Virus Influenza A subtipo H1	1	43	Negativo	97,7%	44
Virus Influenza A subtipo H3	27	–	Positivo	100%	27
Virus Influenza (genérico A y B)	1	–	Positivo	100%	1

## MÉTODOS Y MARCAS

En cuanto a los métodos utilizados en la identificación del virus Influenza A, de las 89 determinaciones efectuadas, 65 se hicieron por PCR a tiempo real (73,0%), mientras que las 24 restantes se hicieron por otros métodos, como la amplificación isotérmica y la inmunocromatografía. Respecto a la PCR a tiempo real, hubo un predominio del equipo GeneXpert de Cepheid, seguido de los reactivos Anyplex de Seegene y RealCycler de Progenie, este último usado con el equipo SmartCycler. La totalidad de métodos y marcas empleadas se muestran en la tabla 2.

En cuanto a la detección del ARN del virus Influenza B, al igual que sucedía con la determinación anterior, hubo un claro predominio de la PCR a tiempo real y, dentro de este grupo, como cabría esperar, predominaba el equipo GeneXpert de Cepheid. Estos datos se muestran en la tabla 3.

Asimismo, el subtipado del virus Influenza A fue realizado mayoritariamente mediante una PCR a tiempo real, predominando de nuevo el equipo GeneXpert de Cepheid para el subtipo H1. En el caso del subtipo H3, se observó un ligero predominio de la PCR a tiempo real de Fast-Track y de los *microarray* de CLART (Genómica). El conjunto de los métodos y marcas empleados para ambos subtipos se muestra en las tablas 4 y 5.

**Tabla 2. Métodos y marcas utilizados en la detección de virus Influenza A.**

Método	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)
PCR <i>real-time</i>	GeneXpert (Cepheid, Izasa)	25 (28,7)	25 (96,3)
	Anyplex (Seegene)	7 (8,0)	7 (100,0)
	RealCycler (Progenie)	7 (8,0)	6 (85,7)
	Fast-Track (Izasa)	5 (5,7)	5 (100,0)
	Roche	5 (5,7)	5 (100,0)
	Simplexa (Focus)	4 (4,6)	4 (100,0)
	Argene (bioMérieux)	2 (2,3)	2 (100,0)
	Applied Biosystems	1 (1,1)	1 (100,0)
	Izasa	1 (1,1)	1 (100,0)
	kPCR (Siemens)	1 (1,1)	1 (100,0)
	LightCycler (Roche)	1 (1,1)	1 (100,0)

	SmartCycler (Cepheid)	1	(1,1)	1	(100,0)
	Desarrollo propio	5	(5,7)	5	(100,0)
Amplificación isotérmica	Alere	9	(10,3)	9	(100,0)
Inmunocromatografía	Alere	1	(1,1)	1	(100,0)
	Clearview (Inverness)	1	(1,1)	1	(100,0)
	Concile	1	(1,1)	1	(100,0)
	QuickVue (bioMérieux)	1	(1,1)	1	(100,0)
Microarray	CLART (Genómica)	3	(3,4)	3	(100,0)
Cultivo <i>shell-vial</i>	Light Diagnostics	1	(1,1)	0	(0,0)
	Vircell	1	(1,1)	1	(100,0)
Citometría PCR	Luminex	1	(1,1)	1	(100,0)
Cultivo celular	No informa	1	(1,1)	1	(100,0)
Cultivo-PCR	Desarrollo propio	1	(1,1)	1	(100,0)
Inmunofluorescencia	MariPOC (Leti)	1	(1,1)	1	(100,0)
PCR	No informa	1	(1,1)	1	(100,0)
Total		89	(100,0)	87	(97,8)

**Tabla 3. Métodos y marcas utilizados en la detección de virus Influenza B.**

Método	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)
PCR <i>real-time</i>	GeneXpert (Cepheid, Izasa)	24 (28,2)	24 (100,0)
	Anyplex (Seegene)	7 (8,2)	7 (100,0)
	RealCycler (Progenie)	7 (8,2)	7 (100,0)
	Fast-Track (Izasa)	5 (5,9)	5 (100,0)
	Simplexa (Focus)	4 (4,7)	4 (100,0)
	Argene (bioMérieux)	2 (2,3)	1 (50,0)
	Applied Biosystems	1 (1,2)	1 (100,0)
	Izasa	1 (1,2)	1 (100,0)
	kPCR (Siemens)	1 (1,2)	1 (100,0)
	SmartCycler (Cepheid)	1 (1,2)	1 (100,0)
	Desarrollo propio	6 (7,1)	6 (100,0)
Amplificación isotérmica	Alere	10 (11,7)	10 (100,0)
Inmunocromatografía	Concile	2 (2,3)	2 (100,0)

	Alere	1	(1,2)	1	(100,0)
	Clearview (Inverness)	1	(1,2)	1	(100,0)
	QuickVue (bioMérieux)	1	(1,2)	1	(100,0)
<i>Microarray</i>	CLART (Genómica)	4	(4,7)	4	(100,0)
Citometría PCR	Luminex	2	(2,3)	2	(100,0)
Cultivo <i>shell-vial</i>	Light Diagnostics	1	(1,2)	1	(100,0)
	Vircell	1	(1,2)	1	(100,0)
Cultivo-PCR	Desarrollo propio	1	(1,2)	1	(100,0)
Inmunofluorescencia	MariPOC (Leti)	1	(1,2)	1	(100,0)
PCR	No informa	1	(1,2)	1	(100,0)
<b>Total</b>		<b>85</b>	<b>(100,0)</b>	<b>84</b>	<b>(98,8)</b>

**Tabla 4. Métodos y marcas utilizados en la detección de virus Influenza A subtipo H1.**

<b>Método</b>	<b>Marca comercial</b>	<b>Número (%)</b>		<b>Acierto (%)</b>	
PCR <i>real-time</i>	GeneXpert (Cepheid, Izasa)	8	(18,2)	8	(100,0)
	Fast-Track (Izasa)	6	(13,6)	6	(100,0)
	Roche	6	(13,6)	5	(83,3)
	Anyplex (Seegene)	2	(4,5)	2	(100,0)
	RealCycler (Progenie)	2	(4,5)	2	(100,0)
	Applied Biosystems	1	(2,3)	1	(100,0)
	Izasa	1	(2,3)	1	(100,0)
	LightCycler (Roche)	1	(2,3)	1	(100,0)
	Primerdesign	1	(2,3)	1	(100,0)
	Verigene (Nanosphere)	1	(2,3)	1	(100,0)
	Desarrollo propio	4	(9,0)	4	(100,0)
	No informa	2	(4,5)	2	(100,0)
<i>Microarray</i>	CLART (Genómica)	3	(6,8)	3	(100,0)
PCR	CDC	1	(2,3)	1	(100,0)
	Desarrollo propio	1	(2,3)	1	(100,0)
	No informa	1	(2,3)	1	(100,0)
Citometría PCR	Luminex	1	(2,3)	1	(100,0)
Cultivo-PCR	Desarrollo propio	1	(2,3)	1	(100,0)
Secuenciación	Desarrollo propio	1	(2,3)	1	(100,0)
<b>Total</b>		<b>44</b>	<b>(100,0)</b>	<b>43</b>	<b>(97,7)</b>

**Tabla 5. Métodos y marcas utilizados en la detección de virus Influenza A subtipo H3.**

Método	Marca comercial	Número (%)	Acierto (%)
PCR <i>real-time</i>	Fast-Track (Izasa)	4 (14,8)	4 (100,0)
	RealCycler (Progenie)	2 (7,4)	2 (100,0)
	Roche	2 (7,4)	2 (100,0)
	Anyplex (Seegene)	1 (3,7)	1 (100,0)
	Primerdesign	1 (3,7)	1 (100,0)
	Verigene (Nanosphere)	1 (3,7)	1 (100,0)
	Desarrollo propio	5 (18,6)	5 (100,0)
	No informa	1 (3,7)	1 (100,0)
<i>Microarray</i>	CLART (Genómica)	4 (14,8)	4 (100,0)
PCR	CDC	1 (3,7)	1 (100,0)
	Desarrollo propio	1 (3,7)	1 (100,0)
	No informa	1 (3,7)	1 (100,0)
Citometría PCR	Luminex	1 (3,7)	1 (100,0)
Cultivo-PCR	Desarrollo propio	1 (3,7)	1 (100,0)
Secuenciación	Desarrollo propio	1 (3,7)	1 (100,0)
Total		27 (100,0)	27 (100,0)

## UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De las 86 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 84 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 97,7%; mientras que los 2 laboratorios restantes indicaron que sí lo utilizaron (2,3%).

## COMENTARIOS

Ocho centros comentaron que detectaron en la muestra otros virus respiratorios como Virus Respiratorio Sincitial, Adenovirus, Coronavirus, Bocavirus y Enterovirus. Otros seis centros comentaron explícitamente que el paciente tenía una infección por el virus Influenza A (H3N2).

Por último, un centro recomendaba tratamiento con oseltamivir, mientras que otro comentaba que la detección de virus respiratorios por técnicas moleculares era para el diagnóstico, no para el control del tratamiento.

Madrid, 17 de noviembre de 2015

**El Coordinador del Programa de Control de Calidad SEIMC**

**Nota:** La asignación del valor de referencia ha sido subcontratada a laboratorios externos.

**Nota:** Si los datos anteriores son incorrectos, o considerasen oportuno apelar los resultados rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa