

CONTROL DE CALIDAD DE VIROLOGÍA (V-1/04)

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 14 meses de edad que, durante el mes de marzo, fue atendida por presentar una diarrea de cinco días de evolución, sin vómitos ni fiebre alta, con ligera febrícula, malestar y pérdida del apetito. Al inicio del cuadro, la diarrea fue acuosa, pero rápidamente se convirtió en una diarrea de heces blandas con una frecuencia de 4-6 deposiciones al día, sin moco ni sangre. En el momento de la exploración no se observaban signos de deshidratación ni dolor abdominal. Como antecedentes epidemiológicos de interés, cuenta la madre que unos dos días antes de que la niña empezara con el episodio diarreico, otros dos niños de su guardería habían comenzado con síntomas similares.

Se recogió una muestra de heces y se envió al laboratorio de microbiología para llevar a cabo la detección de virus en heces. Se solicitaba a los participantes el procesamiento e **identificación del virus** presente en la muestra, así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos. Se enviaron un total de 71 cuestionarios y muestras a los distintos laboratorios, de los que 53 (74,6%) remitieron hoja de respuesta. De ellas, una (1,9%) no contenía resultados valorables (el estudio virológico solicitado no se realizaba en su laboratorio) por lo que, en realidad, fueron 52 los centros que remitieron hojas de respuesta evaluables, siendo el porcentaje de participación real del 73,2%.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

De las 52 hojas de respuesta con resultados evaluables, tan sólo diez (19,2%) llegaron a la identificación del virus objeto del control, que fue encuadrado como perteneciente a la familia de los astrovirus (*Astroviridae*) mediante técnicas de enzoinmunoanálisis y PCR por el laboratorio que actuó como centro de referencia. Como queda reflejado en la tabla 1, tan sólo doce participantes realizaron esta detección, mientras que el resto de laboratorios realizaron otras determinaciones, rotavirus y adenovirus especialmente, cuyos resultados fueron en su mayoría negativos y, en este aspecto, coincidentes con los aportados por el laboratorio de referencia. Tres centros hicieron una determinación de enterovirus (dos mediante cultivo celular *Vircell®* y uno por PCR) y un participante una detección de calicivirus mediante PCR, obteniéndose en todos los casos resultados negativos.

Tabla 1. Resultados de la identificación virológica.

Virus	Negativo	Positivo	Resultado de referencia	Porcentaje coincidente	Total	
					Número	%
Rotavirus	49	1	Negativo	94,2	50	96,2
Adenovirus	48	-	Negativo	92,3	48	92,3
Astrovirus	2	10	Positivo	19,2	12	23,1
Norovirus	9	1	Negativo	17,3	10	19,2
Enterovirus	3	-	Negativo	5,8	3	5,8
Calicivirus	1	-	Negativo	1,9	1	1,9

En cuanto a los métodos utilizados en la identificación del virus, y como cabría esperar, la mayoría de los participantes emplearon una técnica de cribado con alta sensibilidad basada en la inmunocromatografía, la aglutinación con partículas de látex o el enzoinmunoanálisis. Un escaso porcentaje empleó un método de confirmación como la PCR. Cabe mencionar que los métodos de inmunocromatografía y aglutinación con partículas de látex sólo fueron empleados para el estudio de rotavirus y adenovirus. Todas las técnicas empleadas alcanzaron un alto índice de correlación con los resultados aportados por el laboratorio de referencia, con porcentajes de concordancia superiores al 90%.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Rotavirus	Adenovirus	Astrovirus	Norovirus
Inmunocromatografía	26	29	-	-
Aglutinación látex	12	5	-	-
Enzoinmunoanálisis	11	12	11	8
PCR	1	2	1	2
Total	50	48	12	10

Por lo que respecta a las marcas comerciales utilizadas en la identificación, los participantes que realizaron inmunocromatografía para el estudio de adenovirus y rotavirus, emplearon mayoritariamente los reactivos de Combi-Strip® (Fastia), BioKit y Combo-Strip® (Real). En cuanto a los centros que realizaron un enzoinmunoanálisis existe un claro predominio del equipo de Dako. Por lo que respecta a la técnica de aglutinación con partículas de látex, destaca la utilización de los reactivos de bioMérieux y BioKit para el estudio de rotavirus y adenovirus. Estos datos están resumidos en la tabla 3.

Debido a la homogeneidad de los resultados, no es posible obtener conclusiones sobre la distribución por métodos y equipos comerciales de los escasos datos discrepantes con los aportados por el laboratorio de referencia.

Tabla 3. Relación de métodos y marcas comerciales utilizadas.

Método y Marca	Rotavirus	Adenovirus	Astrovirus	Norovirus	Total
Inmunocromatografía					
Combi-Strip® (Fastia)	6	7	–	–	13
BioKit	4	4	–	–	8
Combo-Strip® (Real)	3	3	–	–	6
Operon	3	3	–	–	6
No informa	2	2	–	–	4
Microgen Bioproducts	1	2	–	–	3
Rota-Strip® (Fastia)	2	–	–	–	2
Diarlex (Orion)	1	2	–	–	3
Otros	4	6	–	–	10
Enzimoimmunoanálisis					
Dako	4	4	9	7	24
Adenoclone-Rotaclone	2	2	–	–	4
No informa	1	1	1	1	4
Operon	1	1	–	–	2
Meridian	–	1	–	–	1
Otros	3	3	1	–	7
PCR					
Desarrollo propio	1	2	1	2	6
Aglutinación con látex					
Slide Adenokit-Slide Rotakit® (bioMérieux)	8	2	–	–	10
Adenogen-Rotagen® (BioKit)	2	2	–	–	4
Adenolex-Rotalex® (Orion)	1	1	–	–	2
Bio-Rad	1	–	–	–	1

Finalmente, tan sólo cabe comentar que un centro realizó una detección de calicivirus por PCR, resultando ésta negativa y tres participantes llevaron a cabo una determinación de enterovirus (dos mediante cultivo- Vircell® y uno por PCR) obteniendo igualmente resultados negativos.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De las 52 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 42 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 80,7%; cuatro participantes (7,7%) afirmaron haberlo empleado, tres lo hicieron parcialmente (5,8%) y otros tres centros (5,8%) no aportaron información al respecto.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control, de las 52 hojas de respuesta remitidas con resultados valorables, fueron 35 (67,3%) las que efectuaron algún tipo de comentario, bien de tipo técnico o sobre el caso clínico. La observación más frecuentemente realizada por los participantes fue la imposibilidad de llevar a cabo en sus propios centros la detección de astrovirus y norovirus (13 laboratorios) o la conveniencia de hacerlo. En la tabla 4 se observan los comentarios técnicos efectuados por los distintos participantes.

Tabla 4. Comentarios técnicos realizados por los participantes.

Comentario	Número
No se realiza estudio de astrovirus ni norovirus	13
Enviar muestra a lab. referencia para estudio de astrovirus y norovirus	3
Muestra insuficiente para estudio de astrovirus	2
Resultado EIA-astrovirus positivo débil y PCR-astrovirus positivo	2
Se realiza también PCR	2
No se realiza estudio de norovirus	2
Se recomienda hacer EIA de astrovirus	1
No se realiza estudio de astrovirus ni calicivirus	1
En este laboratorio sólo se realiza estudio de rotavirus	1
Se realiza también cultivo celular	1
Cultivo celular contaminado	1

Por otra parte, tan sólo seis laboratorios hicieron alguna observación clínica sobre el caso, de los cuales tan sólo tres informaron explícitamente que se trataba de un cuadro compatible con infección por astrovirus. Estos datos quedan reflejados en la tabla 5.

Tabla 5. Comentarios técnicos realizados por los participantes.

Comentario	Número
Manifestaciones clínicas compatibles con astrovirus	2
Infección por astrovirus	1
Cuadro clínico no producido por norovirus	1
Sospecha clínica de adenovirus, pero el resultado es negativo	2

VALORACIÓN GENERAL

La valoración inicial del presente control es buena si consideramos el aumento del porcentaje de centros que remitieron hoja de respuesta evaluable con respecto a anteriores controles, y ha permitido conocer las posibilidades diagnósticas para virus gastrointestinales de los laboratorios españoles. En este sentido, conviene resaltar que son pocos los laboratorios capacitados para realizar la detección de astrovirus en heces. El poner de manifiesto esta incapacidad era, en última instancia, uno de los objetivos que se perseguían al diseñar este control. De hecho, muchos de los participantes que no llevan a cabo esta determinación expresan en los comentarios la sospecha o, incluso, la conveniencia de realizarla. Sería interesante que, a la luz de la prevalencia particular de las infecciones por astrovirus en cada área geográfica y de las características propias de cada laboratorio, se hiciese una reflexión sobre la idoneidad de incorporar esta determinación que, desde el punto de vista tecnológico, está claramente al alcance de la mayoría de centros.