

CONTROL DE CALIDAD DE VIROLOGÍA (V-1/13)

En el presente control se envió a los distintos laboratorios participantes una muestra de exudado conjuntival resuspendido en medio de transporte de virus, procedente de la paciente que se comenta en la historia clínica. Se trataba de una paciente de 39 años de edad, sin antecedentes patológicos de interés, que acudía a la consulta de Oftalmología por presentar un cuadro de conjuntivitis bilateral. La paciente relataba que la clínica había comenzado hacía una semana, notando en el ojo derecho una sensación de cuerpo extraño y quemazón que había llevado a un progresivo enrojecimiento del ojo acompañado de secreción mucosa. En las siguientes 48 h los síntomas habían ido intensificándose y comenzaron a aparecer en el ojo izquierdo. A la exploración se observaba un cuadro florido con pseudoptosis, tumefacción y enrojecimiento del pliegue semilunar en ambos ojos. Se tomó una muestra de exudado conjuntival mediante escobillón que se resuspendió en medio de transporte de virus, remitiéndose al laboratorio de Microbiología para estudio virológico.

Se solicitó a los participantes la **identificación** del virus implicado en este cuadro clínico, así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos.

En total, se enviaron 87 cuestionarios y muestras a los distintos laboratorios, de los que 71 remitieron hoja de respuesta, lo que supone un porcentaje de participación del 81,6%. De estos 71 participantes, 3 laboratorios no realizaron ninguna determinación de algún virus. Así, el porcentaje de participación real en este control es del 78,2%, porcentaje inferior al del último control de Virología (87,5%), en el que se solicitaba la detección de Rotavirus.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN

De los 68 centros que emitieron hoja de respuesta con resultados evaluables, 62 (91,2%) llegaron a la identificación correcta del virus objeto del control. El virus remitido fue clasificado por el laboratorio que actuó como centro de referencia para este control como un Adenovirus tipo 8, mediante cultivo en células Hep-2 y observación del efecto citopático característico a los 5 días de incubación, seguido de una inmunofluorescencia con un anticuerpo frente al Adenovirus (Vircell). El mismo laboratorio realizó una PCR en tiempo real (RT-PCR) en el sobrenadante del cultivo, confirmándose la detección de Adenovirus.

Los 68 centros que respondieron informaron un total de 78 determinaciones para Adenovirus, todas ellas informadas como positivas (100,0%). Adicionalmente, algunos participantes llevaron a cabo, además, la detección del virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1) y tipo 2 (VHS-2), enterovirus (EV), virus varicela-zóster (VVZ), citomegalovirus (CMV) y virus de Epstein-Barr (VEB), consignando para todos ellos un resultado negativo. Todos estos datos se señalan en la tabla 1. Además de los virus señalados en la tabla 1, algunos de los laboratorios que informan Adenovirus utilizaron PCR múltiples para la detección de otros virus que no están recogidos 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
Adenovirus	78	–	Positivo	100,0%	78
VHS-1 / VHS-2	–	17	NR	–	17
Enterovirus	–	7	NR	–	7
Virus varicela-zóster	–	7	NR	–	7
Citomegalovirus	–	4	NR	–	4
Virus de Epstein-Barr	–	1	NR	–	1

NR: no realizado.

En cuanto a los métodos utilizados en la identificación del Adenovirus, casi la mitad de los participantes (48,7%) emplearon una técnica molecular para la detección de Adenovirus, principalmente la PCR a tiempo real (RT-PCR), aunque también, menos frecuentemente, la PCR convencional, la PCR seguida de *microarray*, u otras variantes de la misma. Otros participantes realizaron un cultivo celular, en ocasiones seguido de una inmunofluorescencia indirecta para Adenovirus tras la observación de efecto citopático, o bien, un cultivo celular tipo *shell-vial*, utilizando un anticuerpo monoclonal específico para Adenovirus. Además, algunos participantes realizaron, junto con alguno de estos métodos o de forma aislada, una inmunofluorescencia directa (IFD) y/o una prueba rápida de inmunocromatografía (IC) para la detección de Adenovirus. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Adenovirus	VHS-1 / VHS-2	Enterovirus	VVZ	CMV	VEB
PCR a tiempo real	25	13	6	5	2	1
Cultivo celular	14	–	–	–	–	–
Cultivo <i>shell-vial</i>	8	1	–	–	–	–
Cultivo celular + IF	6	–	–	–	–	–
Inmunocromatografía	6	–	–	–	–	–
IF directa (IFD)	6	–	–	–	–	–
PCR convencional	6	2	1	2	2	–
<i>Microarray</i>	3	–	–	–	–	–
Citometría PCR	2	–	–	–	–	–
Excitación fotones	2	–	–	–	–	–
No informa	–	1	–	–	–	–
Total	78	17	7	7	4	1

IF: inmunofluorescencia.

Por lo que respecta a las marcas comerciales utilizadas en la identificación, existe una amplia variedad. Los participantes que realizaron una PCR en tiempo real para la determinación de Adenovirus, emplearon mayoritariamente la PCR múltiple de Anyplex RV16 (Seegene), seguido de los equipos SmartCycler de Cepheid (con reactivos de Progenia) y LightCycler de Roche. Entre los laboratorios que realizaron un cultivo celular, predominaron los cultivos celulares de Vircell (tanto los cultivos convencionales como los *shell-vials*). Estos datos se detallan en la tabla 3. Las determinaciones para otros virus diferentes del Adenovirus fueron todas ellas negativas.

Tabla 3. Relación de métodos y marcas comerciales utilizadas.

Método y Marca	Adenovirus	VHS-1 / VHS-2	Enterovirus	VVZ	CMV	VEB	Total
PCR a tiempo real							
Anyplex RV16 (Seegene)	10	–	–	–	–	–	10
Progenie	4	3	–	–	–	–	7
LightCycler (Roche)	3	3	–	–	–	–	6
Argene (bioMérieux)	3	1	–	–	–	–	4
Qiagen	–	1	–	1	1	1	4
AB Analítica	–	1	–	1	–	–	2
Cepheid	–	1	1	–	–	–	2
GeneXpert (Cepheid)	–	–	2	–	–	–	2
Seegene	–	–	1	1	–	–	2
Abbott	–	–	–	–	1	–	1
Eligene	1	–	–	–	–	–	1
Primerdesign	–	–	1	–	–	–	1
Desarrollo propio	3	2	–	2	–	–	7
No informa	1	1	1	–	–	–	3
Cultivo celular							
Vircell	5	–	–	–	–	–	5
Alere	2	–	–	–	–	–	2
No informa	7	–	–	–	–	–	7
Cultivo <i>shell-vial</i>							
Bio-Rad	3	–	–	–	–	–	3
Vircell	1	1	–	–	–	–	2
Invitrogen (Life Tech.)	1	–	–	–	–	–	1
Light Diagnostics	1	–	–	–	–	–	1
Remel	1	–	–	–	–	–	1
No informa	1	–	–	–	–	–	1
Cultivo + inmunofluorescencia							
Light Diagnostics	2	–	–	–	–	–	2
Alere	1	–	–	–	–	–	1
Argene (bioMérieux)	1	–	–	–	–	–	1
Hybrids diagnostics	1	–	–	–	–	–	1
Oxoid	1	–	–	–	–	–	1
Inmunocromatografía							

CerTest (Biotec)	3	–	–	–	–	–	3
Alere	1	–	–	–	–	–	1
Materlab	1	–	–	–	–	–	1
Vikia (bioMérieux)	1	–	–	–	–	–	1
Inmunofluorescencia directa							
Bartels VRK (Trinity Biotech)	1	–	–	–	–	–	1
Bio-Rad	1	–	–	–	–	–	1
Hybrids Diagnostics	1	–	–	–	–	–	1
Light Diagnostics	1	–	–	–	–	–	1
Vircell	1	–	–	–	–	–	1
No informa	1	–	–	–	–	–	1
PCR convencional							
Desarrollo propio	5	1	1	1	1	–	9
No informa	1	1	–	1	1	–	4
Microarray							
Genómica	3	–	–	–	–	–	3
Citometría PCR							
Luminex	2	–	–	–	–	–	2
Excitación fotones							
MariPOC (Leti)	2	–	–	–	–	–	2
TOTAL	78	17	7	7	4	1	114

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

De las 68 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 61 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 89,7%; mientras que 6 centros afirmaron haberlo empleado (8,8%) y otro centro lo utilizó parcialmente (1,5%).

VALORACIÓN GENERAL

En este control, la práctica totalidad de los participantes (el 91,2%) llegaron a la identificación correcta del virus, bien sea utilizando un método molecular (principalmente una PCR en tiempo real), un cultivo celular (convencional o de tipo *shell-vial*), una inmunofluorescencia directa y/o una técnica rápida de inmunocromatografía. Adicionalmente, otro 4,4% de los centros participantes sospecharon correctamente la etiología del cuadro y así lo pusieron en sus comentarios, si bien especificaron que no disponían de la detección de Adenovirus y que la mandarían a un centro de referencia.

Respecto al porcentaje de centros que remitieron una hoja de respuesta evaluable, la participación en este control (78,2%) fue claramente superior al del control de Virología V-1/99 (43,9%), en el que se remitió una muestra de exudado faríngeo con Adenovirus.

La valoración general del presente control es muy buena, ya que la mayoría de centros están capacitados para detectar el Adenovirus utilizando una amplia variedad de técnicas.