

Detección de antígeno frente a PCR para el diagnóstico de virus gastrointestinales

García-Bertolín C¹, Seijas-Pereda L², Rescalvo-Casas C², Hernando-Gozalo M³, Cuadros-González J⁴, Pérez-Tanoira R⁴

Sanid. mil. 2025; 81 (4): 203-206, ISSN: 1887-8571

RESUMEN

Los brotes de gastroenteritis viral son una amenaza significativa para la capacidad operativa militar. Este estudio comparó la eficacia diagnóstica de los Test de detección Antígeno (T-Ag) y una RT-PCR multiplex en ciento veintinueve muestras fecales de pacientes con diarrea en 2023. La RT-PCR detectó veintiocho casos positivos, mientras que los T-Ag identificaron catorce, y coincidían en once. Los T-Ag mostraron una sensibilidad del 44,4 % y una especificidad del 98,9 %. La RT-PCR demostró mayor sensibilidad y capacidad diagnóstica, lo que detectó virus no incluidos en los T-Ag. En el contexto militar, donde los brotes virales pueden incapacitar rápidamente al personal crítico, la RT-PCR ofrece ventajas cruciales: detección rápida y precisa de múltiples patógenos, esencial en zona de operaciones. Su implementación en protocolos sanitarios militares podría reducir el uso innecesario de antibióticos y mantener la capacidad operativa durante las misiones.

PALABRAS CLAVE: PCR, Test de antígenos, Infección gastrointestinal, Virus, Diagnóstico, Sanidad militar.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal suponen un impacto significativo para la Salud Pública mundial y son superadas en frecuencia únicamente por las infecciones respiratorias. Este tipo de infecciones suponen una de las causas más importantes de morbilidad en lactantes, niños e inmunodeprimidos, lo que constituye la tercera causa de muerte en menores de cinco años. Las infecciones gastrointestinales representan un desafío crítico para la operatividad militar, y son altamente transmisibles y potencialmente incapacitantes. La exposición a alimentos y agua contaminados, combinada con las condiciones únicas del despliegue militar, como los ciclos de despliegue y repliegue de efectivos, el estrés fisiológico y operativo y la convivencia en espacios reducidos de acuartelamiento crean condiciones óptimas para la rápida propagación de estos patógenos¹⁻⁴. Diversos estudios demuestran que estas condiciones pueden conducir a la incapacitación rápida de secciones críticas del personal, lo que afecta directamente a la preparación y respuesta del contingente. Como resultado, el personal militar en zona de operaciones constituye un grupo de alto riesgo que requiere estrategias de prevención, diagnóstico y manejo específicamente adaptadas a las exigencias del entorno operativo. Por ejemplo, durante la Operación «Iraqi Freedom», el 76 % de los

casos de gastroenteritis en Marines estadounidenses se atribuyeron a norovirus (NV), con tasas de ataque del 11 % en menos de dos semanas⁵. Otro estudio reciente realizado en militares portugueses de maniobras reveló que el 40 % de los brotes gastrointestinales fueron causados por múltiples virus como rotavirus (RV), sapovirus (SV) y NV, exacerbados por la falta de infraestructura para aislamiento efectivo. Estas condiciones incrementan no solo la morbilidad, sino también el riesgo de desestabilización logística durante misiones críticas^{6,7}. La figura 1 muestra que las lesiones no relacionadas con el combate y las enfermedades infecciosas (en concreto, los trastornos gastrointestinales) son las principales causas de los problemas sanitarios durante los despliegues militares⁸.

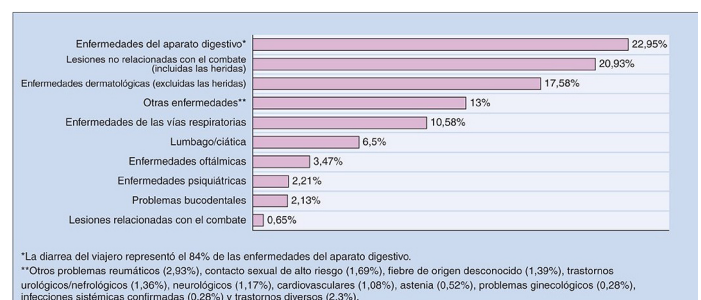


Figura 1. Espectro etiológico de los 4600 problemas sanitarios observados en una cohorte de 4500 militares estadounidenses desplegados. Fuente: Aoun O., Sanders JW., Hickey P. Militares desplegados. En: Medicina del viajero. Barcelona: Elsevier; 2020. p. 343.

La diarrea es un trastorno caracterizado por un aumento en la frecuencia y alteraciones en la consistencia de las heces, clasificadas como tipo 6 y 7 según la Escala de Heces de Bristol. Su etiología puede ser infecciosa, incluyendo causas bacterianas, virales, parasitarias o tóxicas, y no infecciosa (cambios en la motilidad intestinal provocados por estrés, la dieta o el uso de medicamentos, entre otros). Su diagnóstico se sospecha ante tres o más deposiciones no formadas en 24 horas, con una presenta-

¹ Capitán farmacéutico. Instituto de Toxicología de la Defensa (ITOXDEF), Madrid (España).

² Departamento de Biomedicina y Biotecnología. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá, Madrid (España).

³ Departamento de Química Orgánica y Química Inorgánica. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá, Madrid (España).

⁴ Departamento de Microbiología Clínica. Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Madrid (España). Departamento de Biomedicina y Biotecnología. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá, Madrid (España).

Dirección para correspondencia: Carlos García Bertolín. Laboratorio de Microbiología. Instituto de Toxicología de la Defensa. Gita. Ejército, 1, 28047, Madrid (España). Email: cgarber@mde.es

Recibido: 27 de febrero de 2025

Aceptado: 27 de marzo de 2025

ción clínica y gravedad que varían según factores como inmunidad, desnutrición, etiología e inóculo.

Un diagnóstico microbiológico preciso y rápido resulta fundamental para mejorar el pronóstico clínico, ya que permite instaurar terapias antimicrobianas dirigidas, optimizar las medidas de soporte vital y reducir el uso empírico de antibióticos. La prescripción inadecuada de estos fármacos contribuye significativamente al desarrollo de resistencia antimicrobiana, fenómeno que la OMS clasifica entre las diez principales amenazas sanitarias del mundo. Además, en pacientes inmunocomprometidos, el desequilibrio de la microbiota intestinal (disbiosis) secundario al tratamiento antibiótico incrementa el riesgo de colonización por patógenos oportunistas como *Clostridioides difficile*, cuyas cepas toxigénicas pueden desencadenar colitis pseudomembranosa grave⁹. Kramme y col, en un estudio realizado en la India en 2022 y en el que emplearon paneles moleculares multiplex, detectaron cuatrocientos catorce pacientes con gastroenteritis aguda de etiología viral, y el 90 % de estos pacientes recibieron tratamiento antibiótico empírico¹⁰.

Esto solo es posible a través del abordaje multidisciplinar, entre equipos, desde la clínica del paciente hasta el diagnóstico microbiológico, cada vez más relevante por su potencia diagnóstica y reducidos tiempos de respuesta^{11,12}. En el caso de sospecha de etiología viral, la detección rápida es esencial para el tratamiento de soporte y la implementación de medidas preventivas para evitar la transmisión. El RV es uno de los principales agentes causales de gastroenteritis a nivel mundial, aunque la introducción de una vacuna efectiva ha reducido de forma significativa su impacto^{13,14}. Otros virus gastrointestinales como NV, SV, adenovirus (ADV) y astrovirus (ASV) también son causas importantes de gastroenteritis^{15,16}.

Los métodos diagnósticos tradicionales para la detección de patógenos causantes de gastroenteritis aguda, como los cultivos de heces, son laboriosos y se caracterizan por tiempos de respuesta prolongados. Las pruebas de detección de antígenos (T-Ag) ofrecen resultados rápidos (15-30 minutos), no requieren personal altamente cualificado y son económicas, pero tienen limitaciones en sensibilidad y especificidad. En contraste, las técnicas de diagnóstico molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), destacan por su alta sensibilidad y especificidad, lo que permite la detección de múltiples virus simultáneamente. Sin embargo, estas pruebas implican mayores costos, tiempos de procesamiento más largos (2-6 horas) y la necesidad de una infraestructura técnica avanzada y personal capacitado¹⁷⁻¹⁹. En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo comparar la eficacia del diagnóstico etiológico de infecciones gastrointestinales virales mediante PCR y T-Ag, y evalúa sus ventajas y limitaciones en entornos clínicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Se realizó un estudio comparativo para evaluar la eficacia diagnóstica de los test de antígeno (T-Ag) y la RT-PCR para la detección de virus gastrointestinales. Se incluyeron ciento veintinueve muestras fecales de pacientes con síntomas compatibles

con infecciones gastrointestinales agudas a las que les solicitan estudio de virus gastrointestinales, procesadas en el Servicio de Microbiología y Parasitología Clínica de un hospital de segundo nivel, durante el año 2023.

Métodos diagnósticos evaluados

Los T-Ag utilizados han sido:

- *SD BIOSENSOR®: 'STANDARD F Rotaladeno Ag FIA'* para la detección cualitativa de antígenos de rotavirus (RV) y adenovirus (ADV).
- *SD BIOSENSOR®: 'STANDARD F Norovirus Ag FIA'* para norovirus (NV).

Estos kits utilizan la tecnología de inmunocromatografía de flujo lateral (FIA) para detectar los antígenos de estos virus. La prueba es rápida, fácil de realizar y los resultados se pueden obtener en menos de veinte minutos. Este kit es una herramienta útil para el diagnóstico rápido de gastroenteritis viral causada por RV, ADV y NV.

La RT-PCR múltiplex en tiempo real Allplex™ GI-Virus (Seegene, Corea) es una prueba molecular que permite detectar simultáneamente de una sola muestra clínica varios virus que causan gastroenteritis, lo que incluye: NV Grupo I (NV GI) y Grupo II (NV GII), RV, ADV, ASV y SV. La prueba utiliza la tecnología de amplificación de ácido nucleico en tiempo real, que permite la detección rápida y precisa de los virus en cuestión de horas.

Análisis comparativo

Se comparó la sensibilidad y especificidad de ambas técnicas utilizando como técnica de referencia el diagnóstico molecular basado en RT-PCR. Se analizaron las tasas de concordancia entre los métodos, así como las discrepancias en función del tipo de virus detectado.

Consideraciones éticas

El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Se garantizó la confidencialidad de los datos y el uso exclusivo con fines científicos.

RESULTADOS

Los T-Ag detectaron diecisiete casos positivos en las ciento veintinueve muestras (13,2 %): 13 NV; 1 RT; 2 NV+RT; 1 ADV. Tres de los diecisiete casos positivos (17,7 %) fueron negativos por RT-PCR (2 NV y 1 ADV). Los resultados obtenidos por RT-PCR y T-Ag se muestran en la tabla 1.

Cinco pacientes mostraron coinfección por diferentes virus gastrointestinales: ASV+NVGII+RV; NVGII+RV; NVGII+NVGI+RV; 2NVGI+RV. Solo ocho pacientes mayores

Tabla 1. Virus gastrointestinales detectados por RT-PCR multiplex, T-Ag y por grupo de edad

Total	PCR (+)	Ag (+)	Ag (-)	0-2 (n=51)	3-8 (n=20)	>9-30 (n=14)	31-50 (n=7)	51-70 (n=9)	>70 (n=28)
ADV	0	1							
RV	8	3	5	3	3				2
NV	28	13	15						
GI	4	3	1	1	1				2
GII	25	10	15	16	5	2	1	1	
ASV	8			5	1		2		
SV	7			4	3				
Total (%)	45 (35%)			27 (53%)	10 (50%)	2 (14%)	3 (43%)	1 (11%)	2 (7%)

de nueve años (13,8 %) presentaron resultados positivos para alguno de los virus analizados. Las dos técnicas diagnósticas (RT-PCR y T-Ag) coincidieron en trece de los veintiocho casos positivos para NV y en tres de los ocho para RV. Todos los demás resultados fueron discordantes. Considerando la RT-PCR como técnica de referencia, los T-Ag mostraron una sensibilidad del 44,4 % y una especificidad del 98,9 % para la detección de RV, ADV y NV (GI/GII), con valores predictivos positivo y negativo del 94,1 % y 82,1 %, respectivamente.

DISCUSIÓN

Este estudio validó la implementación de una RT-PCR multiplex en tiempo real para la detección de norovirus (GI y GII), rotavirus y adenovirus en muestras de heces, lo que demostró una sensibilidad superior a los métodos basados en la detección de antígenos y amplió la capacidad de detección a astrovirus y sapovirus. La automatización completa del sistema, incluyendo la extracción, la RT-PCR y la interpretación de resultados a través de una interfaz bidireccional con el sistema de información de laboratorio (LIS), agiliza de manera significativa el proceso diagnóstico.

Nuestros resultados revelaron una prevalencia de NV del 21,7 % en pacientes con síntomas gastrointestinales, con predominio del genogrupo GII (86,2 %). La baja sensibilidad observada en las pruebas de detección de antígeno plantea interrogantes sobre la fiabilidad de estos resultados, especialmente, en comparación con la RT-PCR. Dado que, en este estudio, los resultados discrepantes entre los T-Ag y la RT-PCR multiplex han sido frecuentes, resulta crucial evaluar la posibilidad de falsos positivos y, sobre todo, falsos negativos al interpretar los resultados de los T-Ag, teniendo en cuenta su sensibilidad limitada.

La aplicación de paneles moleculares en el diagnóstico de las infecciones gastrointestinales permitirá a los laboratorios clínicos proporcionar resultados fiables con mayor rapidez¹⁰⁻¹². Sin embargo, es importante reconocer que los T-Ag pueden seguir siendo útiles en determinados contextos, en especial, en situaciones de recursos limitados o cuando se requiere una respuesta rápida para el triaje inicial. No obstante, los algoritmos de diagnóstico deben priorizar la RT-PCR multiplex debido a su mayor capacidad para detectar un espectro más amplio de virus gas-

trointestinales. Esto es de especial interés en poblaciones vulnerables como niños y pacientes inmunocomprometidos.

Si bien la RT-PCR requiere una inversión inicial en equipamiento, el coste de los reactivos por prueba es similar al de los T-Ag. Por lo tanto, la principal limitación que se le podría achacar a la RT-PCR, es decir, su elevado coste, no es tal en realidad. La mayor sensibilidad de la RT-PCR permite un diagnóstico etiológico más preciso, lo que reduce la necesidad de pruebas diagnósticas adicionales y el uso empírico de antibióticos. La identificación temprana de infecciones virales evita la prescripción innecesaria de antibióticos, de modo que disminuyen los costes asociados a estos fármacos y, lo que es aún más importante, contribuyen a mitigar la creciente amenaza de la resistencia antimicrobiana, cuyo impacto económico y social es considerable. Además, un diagnóstico más rápido y preciso puede conducir a una mejor gestión de los pacientes, lo que reduce la duración de la estancia hospitalaria y los costes asociados a complicaciones secundarias. Por lo tanto, una evaluación integral de los costes debe considerar no solo la inversión inicial, sino también los beneficios económicos y clínicos a largo plazo derivados de la implementación de la RT-PCR multiplex.

En conclusión, la detección temprana y precisa de virus en pacientes con síntomas gastrointestinales es esencial para un abordaje óptimo, que incluye un diagnóstico preciso, un seguimiento adecuado y un tratamiento dirigido. Tanto las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAT) como la RT-PCR y los T-Ag desempeñan un papel en el diagnóstico de las infecciones virales. Los clínicos deben considerar cuidadosamente la naturaleza de los síntomas del paciente, el contexto clínico y la disponibilidad de recursos al seleccionar la técnica diagnóstica más apropiada para cada caso individual. La RT-PCR multiplex Allplex™ GI-Virus de Seegene es una herramienta útil, coste-efectiva, para el diagnóstico rápido y preciso de virus gastrointestinales comunes, sin aumentar el coste con respecto a los test de antígeno, optimizando el abordaje y tratamiento de los pacientes con infecciones gastrointestinales.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Diarrhoeal disease. [Internet]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
2. Tate JE., Burton AH., Boschi-Pinto C., Parashar UD. World Health Organization-Coordinated Global Rotavirus Surveillance Network. Global, Regional, and National Estimates of Rotavirus Mortality in Children <5 Years of Age, 2000-2013. Clin Infect Dis. 1 de mayo de 2016; 62 Suppl 2: S96-S105. doi: 10.1093/cid/civ1013.
3. Keita AM., Doh S., Sow SO., Powell H., Omere R., Jahangir Hossain M. et al. Prevalence, Clinical Severity, and Seasonality of Adenovirus 40/41, Astrovirus, Sapovirus, and Rotavirus Among Young Children With Moderate-to-Severe Diarrhea: Results From the Vaccine Impact on Diarrhea in Africa (VIDA) Study. Clin Infect Dis. 19 de abril de 2023; 76(76 Suppl1): S123-S131. doi: 10.1093/cid/ciad060.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Norovirus. [Internet]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/norovirus/es/about/acerca-de-los-norovirus.html>
5. Thornton SA., Sherman SS., Farkas T., Zhong W., Torres P., Jiang X. Gastroenteritis in US Marines during Operation Iraqi Freedom. Clin Infect Dis. 15 de febrero de 2005; 40(4): 519-25. doi: 10.1086/427 501.
6. Queiros-Reis L., Lopes-João A., Mesquita JR., Penha-Gonçalves C., Nascimento MSJ. Norovirus gastroenteritis outbreaks in military units: a systematic review. BMJ Mil Health. Febrero de 2021; 167(1): 59-62. doi: 10.1136/bmjilitary-2019-001341.

7. Lopes-João A., Costa I., Mesquita JR., Oleastro M., Penha-Gonçalves C., Nascimento MS. Multiple enteropathogenic viruses in a gastroenteritis outbreak in a military exercise of the Portuguese Army. *J Clin Virol.* Julio de 2015; 68: 73-5. doi: 10.1016/j.jcv.2015.05.008.
8. Aoun O., Sanders JW., Hickey P. Militares desplegados: preparación médica y cuestiones sanitarias relacionadas con el viaje. En: Keystone JS. (Ed.). *Medicina del viajero.* Capítulo 36, 4ª ed. Barcelona: Elsevier España; 2020. p. 343.
9. Meisenheimer ES MD., MBA., Epstein C DO., Thiel D MD., MPH. Acute Diarrhea in Adults. *Am Fam Physician.* Julio de 2022; 106(1): 72-80.
10. Kramme S., Dähne T., Fomenko A., Panning M. Acute Viral Gastrointestinal (GI) Infections in the Tropics-A Role for Cartridge-Based Multiplex PCR Panels? *Trop Med Infect Dis.* 19 de mayo de 2022; 7(5): 80. doi: 10.3390/tropicalmed7050080.
11. Barlam TF., Cosgrove SE., Abbo LM., MacDougall C., Schuetz AN., Septimus EJ. *et al.* Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin Infect Dis.* 15 de mayo de 2016; 62(10): e51-77. doi: 10.1093/cid/ciw118.
12. Candel FJ., Salavert M., Cantón R., Del Pozo JL., Galán-Sánchez F., Navarro D. *et al.* The role of rapid multiplex molecular syndromic panels in the clinical management of infections in critically ill patients: an experts-opinion document. *Crit Care.* 30 de diciembre de 2024; 28(1): 440. doi: 10.1186/s13054-024-05224-3.
13. Burnett E., Parashar UD., Tate JE. Real-world effectiveness of rotavirus vaccines, 2006-19: a literature review and meta-analysis. *Lancet Glob Health.* Septiembre de 2020; 8(9): e1195-e1202. doi: 10.1016/S2214-109X(20)30262-X.
14. Folorunso OS., Sebolai OM. Overview of the Development, Impacts, and Challenges of Live-Attenuated Oral Rotavirus Vaccines. *Vaccines (Basel).* 27 de junio de 2020; 8(3): 341. doi: 10.3390/vaccines8030341.
15. Thongprachum A., Takanashi S., Kalesaran AF., Okitsu S., Mizuguchi M., Hayakawa S., Ushijima H. Four-year study of viruses that cause diarrhea in Japanese pediatric outpatients. *J Med Virol.* Julio de 2015; 87(7): 1141-8. doi: 10.1002/jmv.24155.
16. Onori M., Coltella L., Mancinelli L., Argentieri M., Menichella D., Villani A. *et al.* Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of bacterial and viral enteropathogens in stool samples of paediatric patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* Junio de 2014; 79(2): 149-54. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2014.02.004.
17. Capece F., Bokser V., Guedes V., Paz V., Montoto Piazza L., Wenk G. *et al.* Comparison of antigen test and polymerase chain reaction for SARS-CoV-2 in children younger than 12 years. *Arch Argent Pediatr.* Octubre de 2022; 120(5): 336-339. English, Spanish. doi: 10.5546/aap.2022.eng.336.
18. O'Ryan M. Rotavirus Vaccines: a story of success with challenges ahead. *F1000Res.* 18 de agosto de 2017; 6: 1517. doi: 10.12688/f1000research.11912.1.
19. Waerlop G., Janssens Y., Jacobs B., Jarczowski F., Diessner A., Leroux-Roels G. *et al.* Immune responses in healthy adults elicited by a bivalent norovirus vaccine candidate composed of GI.4 and GII.4 VLPs without adjuvant. *Front Immunol.* 26 de junio de 2023; 14: 1188431. doi: 10.3389/fimmu.2023.1188431.