

**Evaluación preliminar de un método
inmunocromatográfico (Directigen
EZ-RSV) en la detección antigénica
del virus respiratorio sincitial**

Sr. Editor: Las infecciones respira-
torias agudas y las bronquiolitis son
unas entidades que se presentan de

forma epidémica cada estación invernal y afectan preferentemente a la población lactante (< 2 años). Los virus constituyen el principal grupo etiológico de estas entidades y en particular el virus respiratorio sincitial (VRS)¹.

La importancia epidemiológica de estas enfermedades, no sólo a nivel comunitario, sino especialmente a nivel hospitalario (posibles brotes nosocomiales) obliga a realizar un estudio sistemático sobre la presencia del VRS en las muestras respiratorias de los pacientes^{2,3}. De las diferentes técnicas rápidas de detección antigénica, la inmunofluorescencia ha mostrado una mayor sensibilidad, sin embargo es una técnica que generalmente no puede realizarse las 24 h del día^{4,5}. Los enzimoanálisis en fase sólida se han constituido como los métodos de elección en la detección antigénica rápida y cualitativa frente a este virus⁶⁻⁷.

La nueva generación de enzimoanálisis de inmunocromatografía que facilitan, por su sencillez, menor número de reactivos y menor cantidad de desechos biológicos, la realización de un gran número de pruebas.

Aprovechando las semanas de mayor incidencia de infección respiratoria por el VRS hemos realizado un estudio preliminar de uno de estos nuevos métodos inmunocromatográficos para conocer su eficacia en esta situación y valorar su aplicación habitual.

Las muestras respiratorias (aspirados nasofaríngeos) procedían de pacientes pediátricos (< 2 años) con el diagnóstico clínico de infección respiratoria aguda o bronquiolitis. Cada una de las muestras fue sometida a la detección antigénica rápida frente al VRS mediante un método habitual de enzimoanálisis comercial tipo Dot-blot (EIA-db) (Directigen RSV; Becton & Dickinson, EE.UU.) e inoculadas en dos *shell vials* de la línea celular Hep-2 (Viracell, Granada). Las muestras fueron incubadas durante 48-72 h a 36 °C y posteriormente reveladas con un anticuerpo monoclonal específico frente al VRS (Monofluokit RSV, BioRad, Ireland) mediante una inmunofluorescencia directa.

Las muestras positivas en la detección antigénica habitual fueron evaluadas en el nuevo método inmunocromatográfico EZ-RSV (Directigen, EZ RSV, Becton & Dickinson) siguiendo las instrucciones del fabricante. Este método se basa en la unión de un antígeno de membrana (proteína F) del VRS a un conjugado anticuerpo orocloidal de la tira reactiva. El inmunocomplejo formado, en caso de positividad de la muestra, se desplaza a través de la tira reactiva hasta el área de reacción. El conjugado libre se une

a una línea antigénica específica del VRS dando una banda que actúa como control interno de la prueba. El resultado de la prueba se establece a los 15-60 min de la reacción.

En esta evaluación preliminar se han analizado 59 aspirados nasofaríngeos positivos en el EIA-db (100%). Todas las muestras fueron positivas en el cultivo celular (100%) coincidiendo totalmente con la detección antigénica rutinaria. De ellas, sólo 53 muestras (89,8%) fueron positivas en el nuevo método EZ-RSV. Comparado con el cultivo celular y el método antigénico rutinario EIA-db el nuevo método inmunocromatográfico ha presentado una sensibilidad del 89,8% y una especificidad del 100%.

El método EZ-RSV, además de su menor sensibilidad, ha mostrado una mayor tardanza o mayor tiempo de reacción para dar las muestras como positivas. En el 33,9% (18 muestras) de las pruebas fue necesario esperar más de 15 min para dar la reacción como positiva, mientras que la positividad en el método rutinario fue prácticamente instantánea (al final de la secuencia de reacción; unos 5 min).

La importancia epidemiológica de las infecciones por el VRS hace necesaria la aplicación de algún método rápido de detección antigénica que permita detectar la presencia del virus en la población lactante, especialmente si van a ser ingresados¹⁻³. Por ello la sensibilidad de los diferentes métodos de detección es una pieza clave a la hora de su utilización rutinaria. En nuestro caso, el método EIA-db presentó una sensibilidad del 100%; sin embargo, este porcentaje sólo se obtiene ocasionalmente en plena onda epidémica del VRS y en la semana de máxima incidencia de este (momento en el que se realizó el estudio). En un análisis previo realizado en las últimas siete temporadas epidémicas de infección por el VRS, los porcentajes de sensibilidad globales del método EIA-db oscilaron entre el 67,9% y el 83,9% con una media del 80,9%⁸.

El propio fabricante del método EZ-RSV aporta unos valores de sensibilidad que oscilan entre el 44,4 y 100%, que varían en función del tipo de muestra, siendo máximos en los aspirados nasofaríngeos. En un reciente estudio comparativo Ohm-Smith et al⁹ obtienen para el método EZ-RSV una sensibilidad del 0% para muestras de adultos y del 72% para muestras pediátricas (sensibilidad global del 59%) y una especificidad del 98-100%.

Uno de los aspectos que se debe destacar del método EZ-RSV es la facilidad de manejo y los pocos reactivos adicionales, lo cual simplifica enormemente todo el proceso, en contraste con

el método EIA-db que precisa de siete reactivos secuenciales distintos. Sin embargo, el nuevo método EZ-RSV analizado ha presentado la desventaja de la mayor tardanza en la obtención de las positividades, en un porcentaje importante de muestras (33,9%); además de la observación de bandas de reacción débilmente positivas.

En definitiva, la baja sensibilidad y el retraso en la lectura de los resultados hacen que el método inmunocromatográfico EZ-RSV no pueda ser recomendado para su utilización rutinaria en la detección antigénica frente al VRS. Creemos que o bien debería mejorarse la calidad y/o sensibilidad del anticuerpo anti-VRS o el proceso de reacción y/o visualización de la banda final de reacción.

Jordi Reina, Olivia Gutiérrez, María Munar y Margarita Marí

Unidad de Virología. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca. España.

Bibliografía

- Hall C B. Respiratory syncytial virus. En: Feigin R, Cherry J, editors. Textbook of pediatric infectious diseases (4th). Philadelphia: WB Saunders; 1998. p. 2084-111.
- Adcock PM, Stout GG, Hauck MA, Marshall GS. Effect of rapid diagnosis on the management of children hospitalized with lower respiratory tract infection. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16:842-6.
- Karanfil LV, Colon M, Lykens K, Masters CF, Forman M, Griffith ME, et al. Reducing the rate of nosocomially transmitted respiratory syncytial viral infections. *Am J Infect Control*. 1999;27:91-6.
- Waner JL, Whitcomb NJ, Todd SJ, Shalaby H, Wall LV. Comparison of Directigen RSV with viral isolation and direct immunofluorescence for the identification of respiratory syncytial virus. *J Clin Microbiol*. 1990;28:480-3.
- Reina J, Ros M J, Del Valle JM, Blanco I, Munar M. Evaluation of direct immunofluorescence, dot-blot enzyme immunoassay and shell-vial culture for detection of respiratory syncytial virus in patients with bronchiolitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1995;14:1018-20.
- Michaels MG, Serdy C, Barbadora K, Green M, Apalsch A, Wald ER. Respiratory syncytial virus: a comparison of diagnostic modalities. *Pediatr Infect Dis J*. 1992;11:613-6.
- Halstead DC, Todd S, Fritch G. Evaluation of five methods for respiratory syncytial virus detection. *J Clin Microbiol*. 1990;28:1021-5.
- Reina J, González-Cárdenas, Ruiz de Gopegui E, Padilla E, Ballesteros F, Mari M, Munar M. Prospective evaluation of a dot-blot enzyme immunoassay (Directigen RSV®) for the antigenic detection of respiratory syncytial virus from nasopharyngeal aspirates of pediatric patients (1995-2002). *Clin Microbiol Infect*. En prensa 2004.
- Ohm-Smith MJ, Nassos PS, Haller BL. Evaluation of the Binax NOW, BD Directigen and BD Directigen EZ assays for detection of respiratory syncytial virus. *J Clin Microbiol*. 2004;42:2996-9.