

¿Es necesaria en la actualidad una detección virológica rápida y específica de la gripe?

Jordi Reina

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

La gripe es una enfermedad infecciosa altamente contagiosa causada por los virus gripales A y B que generalmente es autolimitada y se produce como brotes epidémicos anuales. Como consecuencia de las pequeñas variaciones antigenicas (deriva antigenica) que sufre el virus gripe A en sus principales antigenos (hemaglutinina y neuraminidasa) es preciso en cada nueva temporada reactualizar la composición de la vacuna frente a este virus.

La vacunación frente a la gripe es en la actualidad, la principal medida de prevención que se podía aplicar a las poblaciones de riesgo. Las recomendaciones sobre las poblaciones que deben ser vacunadas son ampliamente conocidas y quizás tan sólo recordar la incorporación de dos recientes nuevas recomendaciones: la vacunación de los mayores de 50 años sin factores de riesgo y las mujeres embarazadas que vayan a tener sus hijos en los meses epidémicos¹.

La aparición reciente de fármacos antiviricos con mostrada eficacia frente a los virus gripales (inhibidores de la neuraminidasa) tanto en la terapia² como, muy probablemente, en la profilaxis, puede determinar un cambio en el manejo de los pacientes y la muestras con sospecha de infección gripe. Sin embargo, no es solamente este aspecto el que nos invita al cambio de actitud sino también la necesidad de realizar el diagnóstico etiológico con la máxima rapidez para la vigilancia epidemiológica y la detección de las cepas que circulan en la población en cada período epidémico (red de vigilancia epidemiológica de la gripe).

Por todo ello, parece necesario empezar a instaurar de una forma progresiva métodos o técnicas de diagnóstico rápido y específico que nos permitan conocer la verdadera etiología vírica de los cuadros respiratorios considerados clínicamente como gripe procedentes de Atención Primaria^{3,4}. Sin embargo, el objetivo esencial de nuestra atención en estos momentos se circunscribe en el diagnóstico en exclusiva de la infección gripe.

De las diferentes técnicas de diagnóstico rápido frente a los virus gripales debemos destacar las de detección antigenica y las de detección genómica⁵. La detección antigenica directa de los virus gripales se puede realizar por las técnicas de inmunofluorescencia (IF) o por enzimoinmunoensayos (EIE). Antes de valorar estas técnicas

deben considerarse los tipos de muestras que normalmente se utilizan en el diagnóstico de infección gripe, las tomadas en las urgencias hospitalarias, (generalmente aspirados nasofaríngeos) y las tomadas en Atención Primaria (red de vigilancia) y que en la mayoría de las ocasiones son simplemente frotis faríngeos. Las técnicas de IF aplicadas a los virus gripales se han mostrado muy eficaces en su detección sobre aspirados nasofaríngeos, sin embargo su rendimiento es muy variable en función del tipo de muestra⁶⁻⁸. Tienen la ventaja de que pueden aplicarse de forma simultánea para la detección de la mayoría de los virus respiratorios no sólo los gripales, sin embargo poseen dos grandes inconvenientes que dificultan su utilización rutinaria. En primer lugar, estas técnicas no pueden realizarse, al menos en la mayoría de los laboratorios, las 24 horas del día, incluyendo la noche, dado que precisan de un procesado laborioso y la disponibilidad de un microscopio de fluorescencia. Por lo tanto, bajo este aspecto serían unas técnicas rápidas en horario convencional. Por otro lado, su eficacia y rendimiento depende mucho de la calidad de la muestra, presencia de suficientes células epiteliales, y de la experiencia del observador. A pesar de todo ello la inmunofluorescencia indirecta (IFI) frente a los virus gripales debe de considerarse una técnica de alta rentabilidad, aunque probablemente menos sensible que las técnicas de EIE y de detección molecular⁵⁻¹⁰.

Las técnicas de detección antigenica frente a los virus gripales basadas en los EIE se han mostrado con una sensibilidad variable dependiendo de la muestra y del tipo de EIE. La sensibilidad es generalmente superior a la IFI y sobre todo son siempre unas técnicas mucho más sencillas y rápidas que las anteriores^{7,8,11}. Hasta hace poco tan sólo existían sistemas de EIE para el virus gripe tipo A, pero en los últimos dos años han proliferado nuevos métodos de detección antigenica EIE capaces de detectar tanto el virus gripe A como el B, aunque tienen un inconveniente, y es que no los diferencian, sólo dan un resultado positivo o negativo^{12,13}. Al igual que ocurre con la técnica de IFI, el rendimiento de las diferentes EIE varía demasiado en función del tipo de muestra, presentando los peores valores de sensibilidad para los frotis faríngeos, principales muestras remitidas desde la red centinela^{12,13}.

La detección genómica de los virus gripales, básicamente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se ha mostrado como la técnica con mayor sensibilidad e incrementado la detección de los virus gripales en casi un 30% más a partir de muestras remitidas por la red centinela^{5,9,10}. Sin embargo, por ahora presenta algunos inconvenientes para su utilización rutinaria. Los principales son su todavía no estandarización, laboriosidad, contami-

Correspondencia: Dr. J. Reina.
C./ Andrea Doria, 55.
07014 Palma de Mallorca.
E-mail: jreina@hud.es

Manuscrito recibido el 23-10-2000; aceptado 25-10-2000.

Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19: 47-48.

nación cruzada y falta de disponibilidad de la cepa para estudios posteriores. Presenta la gran ventaja de permitir en una sola reacción la detección de ambos virus gripeales y establecer el subtipo al que pertenece la cepa amplificada^{9,10}.

El cultivo celular sigue siendo la técnica de referencia y la que debe realizarse en todos aquellos laboratorios que participen en las redes de vigilancia y control epidemiológico de la gripe. La diferentes técnicas de detección sólo deben utilizarse como tales pero nunca deberán sustituir al cultivo de la muestra, ya que uno de los objetivos esenciales es disponer de la cepa gripeal para su posterior análisis antigenico y probablemente estudio de patogenicidad mediante secuenciación del gen de la hemaglutinina³⁻⁵.

La gripe se ha constituido ya como un importante problema no sólo sanitario, colapso hospitalario, sino social y económico al concentrarse todos los casos clínicos en un reducido período de tiempo (epidemia de 10-12 semanas de duración)^{4,14}. Por ello, la aparición de nuevos fármacos con mostrada eficacia frente a los virus gripeales puede determinar el inicio de una nueva forma sanitaria de abordar este problema. Sin embargo, dado que para obtener su máxima eficacia estos fármacos deben ser administrados las primeras 48 horas del inicio del cuadro clínico², se hace necesario el realizar, al menos al inicio de la epidemia anual de gripe, un diagnóstico etiológico específico, y en especial con rapidez. Por lo tanto, es muy posible que se inicie una demanda de este tipo de detección desde los médicos de Atención Primaria y redes centinela.

¿Cuál debería ser la actitud del viroólogo en esta situación? Las nuevas técnicas de detección antigenica basadas en los EIE parecen ser actualmente las más adecuadas para realizar este diagnóstico rápido y específico, sin embargo su baja sensibilidad, especialmente en las muestras de la red centinela no permite su utilización en exclusiva^{5,7}. Cada laboratorio debería evaluar la eficacia de ellas en función del tipo de muestras que recibe y del tipo de pacientes que atiende (niños o adultos). Así mismo, es preciso adoptar aquella técnica que pueda ser realizada las 24 horas del día y cuya relación coste/beneficio sea la más adecuada. Por otro lado, debe tenerse presente que algunas de estas nuevas técnicas presentan problemas en la interpretación de los resultados (resultados indeterminados), lo cual obliga que sean realizadas exclusivamente por personal cualificado y no por el médico que atiende al paciente (posibilidad apuntada por algunos especialistas).

Así pues, es muy posible que la aparición de los nuevos fármacos antigripales nos determinen un cambio de actitud en el procedimiento logístico de diagnóstico frente a esta enfermedad. La existencia de una buena coordinación entre el laboratorio de virología y los médicos comunitarios (centinela o no) o los propios del hospital, es la mejor forma de obtener la máxima eficiencia de las nuevas técnicas de diagnóstico rápido frente a la gripe. Su necesidad y aplicación debería ser prioritaria al principio de las epidemias o en los casos clínicos dudosos y siempre acompañadas del cultivo celular.

Probablemente deban ser los laboratorios de virología que forman parte de las redes centinela de vigilancia epidemiológica frente a la gripe los que inicien el camino hacia la evaluación e implantación progresiva de diagnóstico rápido frente a la misma¹⁵. Tras un proceso de evaluación minuciosa conjunta entre el viroólogo y el clínico, deberán establecerse las bases de su continuidad y aplicabilidad en las diferentes situaciones epidemiológicas en las que puede encontrarse un paciente con gripe. Es muy posible que en poco tiempo tengamos que aceptar que si nadie duda de la necesidad de realizar la detección antigenica frente al virus respiratorio sincitial en los niños con bronquiolitis, también debamos incorporar al catálogo de determinaciones de urgencia la detección rápida de los virus gripeales.

Bibliografía

1. Centers for Diseases Control. Prevention and control of influenza. Recommendations of the advisory committee on immunization practices. MMWR 2000; 49(RR3): 1-38.
2. Calfee DP, Hayden FG. New approaches to influenza chemotherapy. Nueraminidase inhibitors. Drugs 1998; 56(4): 537-553.
3. Monto AS, Sullivan KM. Acute respiratory illness in the community. Frequency of illness and the agents involved. Epidemiol Infect 1993; 110: 145-160.
4. Fleming DM, Zambon M, Bartelds AIM. Population estimates of persons presenting to general practitioners with influenza-like illness, 1987-96: a study of the demography of influenza-like illness in sentinel practice networks in England and Wales, and in The Netherlands. Epidemiol Infect 2000; 124: 245-253.
5. Wallace LA, McAulay KA, Douglas JDM, Elder AG, Stott DJ, Carman WF. Influenza diagnosis: from dark isolation into the molecular light. J Infect 1999; 39: 221-226.
6. Johnston SLG, Siegel CS. A comparison of direct immunofluorescence, shell vial culture and conventional cell culture for the rapid detection of influenza A and B. Diagn Microbiol Infect Dis 1991; 14: 131-134.
7. Reina J, Munar M, Blanco I. Evaluation of a direct immunofluorescence assay, dot-blot enzyme immunoassay, and shell vial culture in the diagnosis of lower respiratory tract infections caused by Influenza A virus. Diagn Microbiol Infect Dis 1996; 25: 143-145.
8. Reina J, Saurina J, Fernández-Baca V, Munar M. Evaluation of an indirect immunofluorescence assay and two cell lines in the detection of Influenza B virus in nasopharyngeal samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998; 17: 532-534.
9. Ellis JS, Fleming DM, Zambon MC. Multiplex reverse transcription-PCR for surveillance of influenza A and B viruses in England and Wales in 1995 and 1996. J Clin Microbiol 1997; 35: 2.076-2.082.
10. Atmar RL, Baxter BD, Domínguez EZ, Taber LH. Comparison of reverse transcription-PCR with tissue culture and other rapid diagnostic assays for detection of type A influenza virus. J Clin Microbiol 1996; 34: 2.604-2.606.
11. Kaiser L, Briones MS, Hayden FG. Performance of virus isolation and Directigen FluA to detect influenza A virus in experimental human infection. J Clin Virol 1999; 14: 191-197.
12. Covalciuc KA, Webb KH, Carlson CA. Comparison of four clinical specimen types for detection of influenza A and B virus by optical immunoassay (FluOIA test) and cell culture methods. J Clin Microbiol 1999; 37: 3.971-3.974.
13. Noyola DE, Clark B, O'Donnell FT, Atmar RL, Greer J, Demmler GJ. Comparison of a new neuraminidase detection assay with and enzyme immunoassay, immunofluorescence and culture for rapid detection of influenza A and B viruses in nasal wash specimens. J Clin Microbiol 2000; 38: 1.161-1.165.
14. Fleming DM, Zambon M, Bartelds AIM, De Jong J. The duration and magnitude of influenza epidemics. Eur J Epidemiol 1999; 467-473.
15. Reina Prieto J, Ballesteros Martínez F. La gripe en el siglo XXI: preparándonos para una nueva pandemia. Rev Clin Esp 2000; 200: 113-115.