

Evaluación de un sistema EIA-DB en la detección antigénica del virus Influenza B/Hong Kong/330/01 en pacientes pediátricos (2002-2003)

Sr. Editor: La gripe es una infección causada por los virus gripe A y gripe B (VGA y VGB) que se presenta como brotes epidémicos anuales coincidiendo con los meses invernales. En la actualidad las epidemias están ocasionadas por dos subtipos del virus de la GA (H1N1 y H3N2) y el VGB. Mientras que el VGA provoca brotes epidémicos cada año, aunque de intensidades variables según el subtipo predominante, el VGB presenta en general una periodicidad bianual¹. La última temporada epidémica gripal (2002-2003) se inició en nuestra comunidad de una forma muy precoz (semana 47) y con una infección exclusiva por el virus *Influenza B/Hong Kong/330/01* que afectó preferentemente a la población infantil (entre 4 y 15 años).

Ante la afectación masiva de esta cohorte infantil (tasas del 150-400/100.000) decidimos aplicar de una forma sistemática un método de detección antigénica rápido tipo enzimo-inmunoanálisis Dot-blot (EIA-DB) a todas las muestras respiratorias procedentes de este grupo de pacientes con el objetivo de detectar precozmente este tipo de infección.

Las muestras respiratorias (aspirados nasofaríngeos y frotis faríngeos) fueron sometidas al proceso de detección antigénico y al cultivo celular. La técnica antigénica utilizada se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante y va dirigida contra la nucleoproteína de los VGA y VGB (Directigen FluA + B, Becton & Dickinson, USA), permitiendo diferenciar entre ambos virus². Una parte de las muestras fueron inoculadas en *shell-vials* de las líneas celulares Hep-2, MDCK, LLC-MK2 y MRC-5 (Vircell, Granada), que tras 48-72 h de incubación fueron reveladas con anticuerpos monoclonales específicos frente a los diferentes virus respiratorios (Monofluokit, BioRad)²⁻⁴.

En el período transcurrido entre el 15 de noviembre de 2002 (detección del caso índice) hasta el 28 de febrero de 2003 se analizaron 165 muestras respiratorias. Las muestras procedían tanto de la red centinela de vigilancia de la gripe como de los niños atendidos en las urgencias hospitalarias.

De las 165 muestras analizadas, 16 (9,7%) pertenecían a la red centinela y el resto a muestras tomadas en urgencias (90,3%). En 64 muestras (38,7%) se aisló por cultivo celular el VGB y 101 fueron negativas (61,3%). El método EIA-DB detectó 47 mues-

tras como positivas y tres fueron consideradas como falsos positivos (crecimiento de un virus distinto en el cultivo celular). A partir de estos datos, el método EIA-DB estudiado ha mostrado una sensibilidad del 73,4%, especificidad del 97%, valor predictivo positivo del 94% y valor predictivo negativo del 85,2%.

Aunque al inicio de la epidemia gripal de cada año las manifestaciones clínicas de los pacientes permiten realizar el diagnóstico con bastante exactitud, es muy importante obtener muestras de los primeros casos para intentar el aislamiento del virus gripal circulante y establecer sus características antigénicas; de este modo se comprueba su homología con las cepas incluidas en la vacuna administrada en la temporada correspondiente^{1,5,6}.

Diferentes estudios han demostrado una gran variabilidad en la eficacia diagnóstica del método EIA-DB analizado dependiendo del tipo de población y muestra utilizada⁵⁻⁸. En un estudio previo observamos cómo en las muestras pediátricas el método antigénico presentaba para el VGB una sensibilidad del 62,5%; en este estudio la epidemia gripal estuvo ocasionada preferentemente por el VGA². Este dato demuestra un incremento en la eficacia global del método EIA-DB (62,5% frente a 73,4%) asociado al incremento en la prevalencia de infección por el VGB. En la mayoría de estudios el método EIA-DB ha mostrado una mayor eficacia diagnóstica en la detección del VGA⁷⁻⁹, obteniéndose resultados significativamente inferiores para el VGB, lo cual parece asociarse a la menor carga viral presente en el tracto respiratorio de los pacientes con infección por este tipo de virus^{8,9}. La detección antigénica mediante la inmunofluorescencia directa también se ha utilizado frente al VGB, sin embargo, los escasos estudios existentes parecen indicar una sensibilidad baja (52,6%) frente al cultivo celular^{5,7}.

El tipo de muestra también se ha demostrado que influye en este método antigénico, siendo mucho más eficaz en los aspirados nasofaríngeos que en los frotis faríngeos y/o nasales^{2,8}. En este estudio, y debido a la población infantil analizada, la mayoría de las muestras eran aspirados nasofaríngeos (92,7%), no habiéndose observado diferencias entre ambos tipos de muestras aunque dada la elevada prevalencia de la infección por el VGB y el escaso número de frotis faríngeos, es posible que no se refleje en los resultados.

En resumen, el método EIA-DB analizado ha mostrado una sensibilidad aceptable (73,4%) para la detección rápida del virus *Influenza B/Hong Kong/330/01* en las muestras respira-

torias de una población infantil de entre 5-14 años en una temporada epidémica con elevada prevalencia de infección por este virus. Su utilización sistemática ha permitido detectar precozmente los pacientes infectados por este virus e implementar las medidas logísticas destinadas a evitar la propagación del mismo en aquellos casos que precisaron del ingreso hospitalario.

Jordi Reina,
María González-Cárdenas
y Enrique Ruiz de Gopegui
Unidad de Virología. Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca. Baleares. España.

Bibliografía

- Centers for Diseases Control. Prevention and control of influenza. Recommendations of the advisory committee on immunization practices. MMWR 2000;49(RR3):1-38.
- Reina J, Padilla E, Alonso F, Ruiz de Gopegui E, Munar M, Mari M. Evaluation of a new dot blot enzyme immunoassay (Directigen Flu A + B) for simultaneous and differential detection of influenza A and B virus antigens from respiratory samples. J Clin Microbiol 2002;40:3515-7.
- 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;25:143-5.
- 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;17:532-4.
- Wallace LA, McAulay KA, Douglas JDM, Elder AG, Stott DJ, Carman WF. Influenza diagnosis: from dark isolation into the molecular light. J Infect 1999;39:221-6.
- Storch GA. Rapid diagnostic test for influenza. Curr Opin Pediatr 2003;15:77-84.
- Kaiser L, Briones MS, Hayden FG. Performance of virus isolation and Directigen Flu A to detect influenza A virus experimental human infection. J Clin Virol 1999;14:191-7.
- Chan KH, Maldeis N, Pope W, Yup A, Ozinskas A, Gill J, et al. Evaluation of the Directigen FluA + B test for rapid diagnosis of influenza virus type A and B infections. J Clin Microbiol 2002;40:1675-80.
- 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;14:131-4.