

Tabla 1

Sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de los métodos fenotípicos empleados respecto a los métodos de referencia (aglutinación PBP2' y PCR del gen mecA)

	Brilliance MRSA 2	Vitek 2/MicroScan
S	100%	92,1%
E	96,7%	100%
VPP	97,7%	100%
VPN	100%	96,7%

y el valor predictivo negativo (100%) del medio Brilliance MRSA 2 para la detección de la resistencia a metilicina fueron superiores a la de los 2 sistemas para antibiogramas automatizados (tabla 1).

En conclusión, consideramos que la siembra directa en medio Brilliance MRSA 2 de los hemocultivos positivos con cocos tipo estafilococo en la observación microscópica adelanta 24 h, con gran fiabilidad, la posibilidad de emitir un informe preliminar, de bacteriemia por SAMR a un precio asequible para todos los laboratorios de microbiología clínica. No obstante, para la emisión del informe definitivo consideramos necesario realizar la identificación y el antibiograma por medios convencionales a partir de las colonias obtenidas de la siembra del hemocultivo.

Bibliografía

- Noskin GA, Rubin RJ, Scheantag JJ, Kluitmans J, Hedblom EC, Jacobson C, et al. National trends in *Staphylococcus aureus* infection rates: impact on

- economic burden and mortality over a 6-year period (1998-2003). *Clin Infect Dis*. 2007;45:1132-40.
- Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2003;36:53-9.
- Cosgrove SE. The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clin Infect Dis*. 2006;42 Suppl 2:S82-9.
- Clinical Laboratory Standards Institute, Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. Twentieth informational supplement June 2010 Update M100-S20-U, Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, PA 2010.
- Velasco D, del Mar Tomás M, Cartelle M, Beceiro A, Pérez A, Molina F, et al. Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55:379-82.

Mercedes Treviño-Castellano^{a,*}, Paloma Areses-Elizalde^a,
Eva Torres-Sanjiao^b y Germán Bou^b

^a Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, La Coruña, España

^b Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario de La Coruña, La Coruña, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: María.Mercedes.Trevino.Castellano@sergas.es (M. Treviño-Castellano).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2012.04.009>

Utilidad de la inmunofluorescencia directa en el diagnóstico rápido y específico de conjuntivitis por adenovirus

Use of a direct immunofluorescence assay in the rapid and specific diagnosis of adenoviral conjunctivitis

Sr. Director:

La conjuntivitis aguda es una enfermedad que puede ser debida principalmente a causas alérgicas o infecciosas, y en este último caso están implicados varios microorganismos distintos. Los virus, especialmente los diferentes serotipos de adenovirus, constituyen una de las causas más comunes, aunque no deberían descartarse los enterovirus (conjuntivitis hemorrágica) y los virus gripales¹. Las conjuntivitis por adenovirus pueden ocurrir de manera esporádica o en forma de brotes, afectando tanto a niños como adultos y predominando en los meses de primavera¹.

El diagnóstico de conjuntivitis por adenovirus puede ser realizado directamente mediante la detección de los antígenos virales específicos (inmunofluorescencia [IF] o inmunocromatografía), el cultivo celular (clásico o shell-vial) o por las técnicas de amplificación genómica (reacción en cadena de la polimerasa [PCR])^{2,3}. El cultivo shell-vial presenta, frente al cultivo convencional, la ventaja de su mayor rapidez y especificidad diagnóstica³.

La IF es una técnica rápida y específica que se puede hacer en un corto espacio de tiempo, y generalmente es más sensible que el cultivo celular, incluyendo el shell-vial^{3,4}. La PCR ha sido descrita como la técnica más sensible y específica para este tipo de diagnóstico viral, pero tiene la posible desventaja de presentar un tiempo de procesamiento más largo, mayor complejidad técnica y superior coste que la IF^{2,5}.

Presentamos un estudio prospectivo sobre la utilidad de la inmunofluorescencia directa (DFA) frente al cultivo celular shell-vial en el diagnóstico de sospecha de conjuntivitis por adenovirus.

Se estudiaron 68 muestras clínicas de pacientes con sospecha clínica de conjuntivitis viral. Las muestras no correspondían a ningún brote y eran casos individuales, y se han incluido en el estudio 2 muestras de un mismo paciente (ojos distintos). Todas las muestras (frotis conjuntivales) fueron recogidas con un escobillón estéril sin anestesia local y por el oftalmólogo. Las muestras se enviaron al laboratorio en un medio líquido de transporte para virus (MTV, Vircell, Granada, España). Las muestras fueron homogeneizadas (vortex) para obtener un mayor rendimiento de la DFA. De cada una de ellas se tomaron 200 µl y se citocentrifugaron en un porta a 700 rpm durante 10 min (Cytospin 3, Shandon Científico, Inglaterra). Después de su secado al aire, las preparaciones fueron fijadas con acetona a -20 °C durante 10 min y a continuación se revelaron mediante una técnica de IF indirecta utilizando anticuerpos monoclonales de ratón marcados con fluoresceína específicos para los adenovirus (clones H-60 y H-72) (Adenovirus Monofluokit, BioRad, Irlanda).

A partir de la suspensión celular inicial de las muestras se inocularon 0,5 ml en un shell-vial de la línea de células Hep-2 (Vircell, Granada, España). Los viales se centrifugaron a 3.500 rpm durante 15 min; posteriormente se incubaron a 36 °C durante 48 h. Transcurrido este tiempo, las monocapas se tiñeron con los mismos anticuerpos monoclonales utilizados en el DFA.

De las 68 muestras estudiadas, 32 (47%) fueron consideradas como positivas para adenovirus. La DFA fue positiva en 28 (87,5%) muestras y el cultivo shell-vial, en 26 (81,2%). En el 68,7% de los casos el diagnóstico se realizó de forma simultánea por ambas técnicas; en 6 casos (18,7%) la muestra fue positiva solo en la DFA y en 4 casos (12,5%) fue positiva solo en el cultivo shell-vial (tabla 1).

En este estudio la DFA ha presentado una sensibilidad ligeramente mayor que la del cultivo shell-vial, aunque la primera tiene la ventaja de la mayor rapidez diagnóstica. La técnica de DFA se ha podido realizar con una media de 1,5 h desde la recepción de la

Tabla 1

Comparación entre la inmunofluorescencia directa y el cultivo celular shell-vial en el diagnóstico de conjuntivitis por adenovirus

DFA	CSV	n (%)
+	+	22 (68,7)
+	-	6 (18,7)
-	+	4 (12,5)
28 (87,5%)	26 (81,2%)	32

CSV: cultivo celular shell-vial; DFA: inmunofluorescencia directa.

muestra y el cultivo shell-vial requiere un periodo mínimo de 2 días de incubación para dar el resultado definitivo^{3,4}.

En las muestras positivas solo por la DFA es posible que el retraso en el envío o recogida de las muestras o la baja presencia de células en las mismas haya determinado la pérdida de la capacidad replicativa de los adenovirus presentes en ellas^{2,6}.

En los 4 casos solo positivos por el cultivo shell-vial se observó una escasa presencia de células conjuntivales en las muestras, quizá no suficientes para detectar la presencia de los antígenos virales; en algunos trabajos sobre detección de infecciones herpéticas, no adenovirus, se establece la presencia mínima de 20 células/campo para aceptar la muestra como viable para esta técnica⁷; sin embargo, no existen estudios sobre este valor en la detección de conjuntivitis por adenovirus. La baja carga viral de las muestras en estos casos solo permitiría su detección mediante el cultivo prolongado en el shell-vial³.

Los resultados de este estudio sugieren la mayor eficacia de DFA frente al cultivo celular shell-vial en el diagnóstico rápido y específico de la conjuntivitis por adenovirus, obteniéndose resultados dentro de las 2 h posteriores a la recepción de las muestras, período de tiempo incluso menor al necesario para la aplicación de algunas técnicas moleculares. Sin embargo, presenta la desventaja

de la necesidad de disponer de un microscopio de fluorescencia de forma continua y estar sometida a la subjetividad del observador, de modo que precisa de personal con experiencia en este tipo de técnicas. La DFA podría ser útil para el diagnóstico rápido de los brotes de conjuntivitis que se presentan en comunidades cerradas.

Bibliografía

1. Asbell PA, deLuise VP, Bartolomei A. Viral conjunctivitis. En: Tabbara KF, Hyndiuk RA, editores. *Infections of the eye*. London: Little Brown; 1996. p. 453–70.
2. El-Sayed Zaki M, Abd-El Fatah GA. Rapid detection of oculo-pathogenic adenovirus in conjunctivitis. *Curr Microbiol.* 2008;56:105–9.
3. Trabelsi A, Pozzetto B, Mbida AD, Grattard F, Ros A, Gausin OG. Evaluation of four methods for rapid detection of adenovirus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1992;11:535–9.
4. Loseva IE. Express diagnosis of eye adenovirus infection by fluorescent antibody method. *Vestn Oftalmol.* 1998;114:24–6.
5. Saitoh-Inagawa W, Oshima A, Aoki K, Itoh N, Isobe K, Uchio E, et al. Rapid diagnosis of adenoviral conjunctivitis by PCR and restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol.* 1996;34:2113–6.
6. Uchio E, Aoki K, Saitoh W, Itoh N, Ohno S. Rapid diagnosis of adenoviral conjunctivitis of conjunctival swabs by 10-min immunochromatography. *Ophthalmology.* 1997;104:1294–9.
7. Landry ML, Ferguson D, Wlochowski J. Detection of herpes simplex virus in clinical specimens by cytospin-enhanced direct immunofluorescence. *J Clin Microbiol.* 1997;35:302–4.

Cándida Deniz y Jordi Reina *

Unidad de Virología, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jorge.reina@ssib.es (J. Reina).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2012.04.006>