

Cartas al director

Jorge Pérez,
Esther Culebras,
Elvira Baos,
Adela Álvarez-Buylla,
Iciar Rodríguez-Avial,
Francisco Javier Candell,
Juan J. Picazo

Utilidad clínica de test rápidos para el diagnóstico de la nueva gripe An/H1N1

Departamento de Microbiología, Hospital Clínico de Madrid

Sr. Director:

Los virus de la influenza A H3N2, H1N1 y los virus de la influenza B, son los principales agentes causales de infecciones respiratorias en humanos durante la época invernal, provocando importantes problemas de morbi- mortalidad en niños, ancianos y enfermos crónicos¹. La reciente aparición de una nueva cepa de virus de la gripe A (gripe An/H1N1) supone un serio problema sanitario a nivel mundial y hace necesaria la aplicación de métodos diagnósticos rápidos que permitan llevar a cabo un diagnóstico urgente y eficaz². La PCR-RT (reacción en cadena de la polimerasa con transcripción en reverso) ha sido designada como la técnica de referencia para la determinación de la infección por el virus An/H1N1 tanto por el CDC de Atlanta como por la OMS³. Esta técnica tiene muchas ventajas, principalmente su sensibilidad y especificidad, pero requiere personal experto para su realización y una infraestructura adecuada. En este contexto los test rápidos o las PCRs convencionales ofrecerían como ventajas su fácil realización y un menor requerimiento de infraestructura. Existen pocos datos acerca de la fiabilidad diagnóstica de estos test⁴. Se sabe que son capaces de distinguir entre influenza A y B pero que no pueden, dentro de la influenza A, detectar el subtipo, por lo que no servirían para hacer un diagnóstico definitivo de infección para la variante pandémica. No obstante, y dado que está comprobado que durante el pico epidémico gripal de la temporada 2009-2010, la nueva variante de gripe An/H1N1 ha sido la predominante⁵, estos test rápidos podrían ser útiles como diagnóstico presuntivo de gripe An/H1N1, siempre y cuando se establezca su sensibilidad respecto de la técnica de referencia y el límite de detección de cada uno de ellos. En este estudio se incluyeron 22 exudados nasofaríngeos que previamente habían sido positivos por PCR a tiempo real. Se determinaron las cargas virales de cada muestra para gripe An/H1N1 y, posteriormente, se evaluó la sensibilidad respecto a la prueba de referencia, estableciéndose

el límite de detección para cada una de las pruebas rápidas que se estaban analizando. Las cargas virales se calcularon considerando el ciclo umbral de detección de fluorescencia en el que empezaba a detectarse el amplicón específico del gen de la proteína de matriz M2 (Ct) en la técnica de referencia RT/PCR (Roche), y extrapolando este valor en las curvas de calibración elaboradas mediante diluciones seriadas de un plásmido control de número de copias conocido que contenía ese gen y que se incluye como control en el kit de cebadores-sondas.

Se evaluaron 2 test comerciales diferentes: Clearview® (CV) Influenza A&B (Inverness Medical) y Quick Vue® (QV) Influenza A+B (Biomerieux). Ambos se utilizaron siguiendo las indicaciones del fabricante y los resultados obtenidos fueron interpretados por, al menos, 2 de los autores del estudio.

Las 22 muestras analizadas poseían un rango de cargas virales comprendido entre 1×10^2 y 1×10^8 copias/ml. Ambos test antigénicos mostraron una sensibilidad de moderada a baja: el test QV fue el que mostró una sensibilidad mayor (45%) y un límite de detección más bajo (1×10^4 copias/ml). De las 22 muestras analizadas, 10 dieron un resultado positivo mediante esta técnica. Las cargas virales de estas muestras estaban comprendidas entre $1,74 \times 10^4$ copias/ml y $1,9 \times 10^8$ copias/ml. Dos de las muestras, resultaron negativas para este test a pesar de tener cargas virales de $3,96 \times 10^6$ y $2,39 \times 10^6$ copias/ml respectivamente. La sensibilidad respecto de la PCR-RT fue del 50% aproximadamente. El test CV fue positivo para 3 muestras, todas con valores de Ct comprendidos entre los ciclos 20-25. El número de muestras positivas para cada uno de los test empleados por intervalos de Ct, la sensibilidad respecto a la técnica de referencia (RT/PCR) y los límites de detección para cada técnica se muestran en la tabla 1.

Los test rápidos han demostrado poseer un amplio rango de sensibilidades para el diagnóstico no sólo de la gripe An/H1N1, sino también de las gripes estacionales de otros años^{6,7}. Los test evaluados en nuestro estudio mostraron un rango de sensibilidades respecto de la técnica de referencia del 15% al 45% para la detección de gripe An/H1N1. Estos datos son similares a los encontrados en otros estudios⁸. El test QV fue el que mostró mejores resultados en cuanto a sensibilidad y límite de detección. Al igual que en otros trabajos como en el

Correspondencia:
Jorge Pérez
Departamento de Microbiología,
Hospital Clínico de Madrid
C/Martin Lagos s/n
28040 Madrid, España.
Tfno: 913303486. Fax: 913303478

e-mail: joralpergar@gmail.com

Test	Número de muestras positivas por intervalo de Ct				Sensibilidad (%) respecto a la RT/PCR	Limite de detección
	<20	20-<25	25-30	>30		
CV	0	3	0	0	3/22 (13,63%)	1x10 ⁶ copias/ml
QV	0	3	4	3	10/22 (45,45%)	1x10 ⁴ copias/ml

Ct: ciclo umbral de detección de fluorescencia; RT/PCR: reacción en cadena de la polimerasa con transcripción en reverso; CV: Clearview® Influenza A&B; QV: Quick Vue® Influenza A+B.

de Vasoo et al.⁹, la sensibilidad del test se situó en torno a un 50%. Otros estudios, sin embargo, sitúan esta sensibilidad en torno al 70%¹⁰. Además este test posee un límite de detección más bajo, por lo que sería útil en muestras con cargas virales por encima de 1 x 10⁴ copias/ml. El test CV mostró valores inferiores tanto en sensibilidad como en límite de detección; éste último se situó 2 diluciones por encima del test QV. Todas las muestras positivas por el test de detección rápida CV tenían Ct bajos en la técnica de referencia y, por lo tanto cargas virales altas. Por tanto, y en vista de los resultados obtenidos, podemos concluir que estos test rápidos pueden ser útiles en el diagnóstico presuntivo de gripe An/H1N1 en muestras clínicas con cargas virales altas.

Med. 2009; 361:728-9.

9. Vasoo S, Stevens J, Singh K. Rapid antigen tests for diagnosis of pandemic (Swine) influenza A/H1N1. *Clin Infect Dis* 2009; 49:1090-3.
10. CDC. Evaluation of rapid influenza diagnostic tests for detection of novel influenza A (H1N1) Virus. *MMWR* 2009; 58:826-9.

BIBLIOGRAFÍA

1. Glezen WP. Prevention and treatment of seasonal influenza. *N Engl J Med* 2008; 359:2579-85.
2. Poon LL, Chan KH, Smith GJ, Leung CS, Guan Y, Yuen KY, Peiris JS. Molecular detection of a novel human influenza (H1N1) of pandemic potential by conventional and real-time quantitative RT-PCR assays. *Clin Chem* 2009; 55: 1555-8.
3. CDC. Protocol of realtime RTPCR for influenza A (H1N1). En: <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptcr/en/index.html>
4. Ginocchio CC, Zhang F, Manji R, Arora S, Bornfreund M, Falk L et al. Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak. *J Clin Virol* 2009; 45:191-5.
5. Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Vigilancia de la gripe en España. Semana 01/2010. En : <http://vgripe.isciii.es/gripe>
6. Agoritsas K, Mack K, Bonsu BK, Goodman D, Salamon D, Marcon MJ. Evaluation of the Quidel Quick Vue test for detection of influenza A and B viruses in the pediatric emergency medicine setting by use of three specimen collection methods. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2638-41.
7. Uyeki TM, Prasad R, Vukotich C, Stebbins S, Rinaldo CR, Ferng YH et al. Low sensitivity of rapid diagnosis test for influenza. *Clin Infect Dis* 2009; 48:e89-92.
8. Faix DJ, Sherman SS, Waterman SH. Rapid-test sensitivity for novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J*