



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

[www.elsevier.es/eimc](http://www.elsevier.es/eimc)



## Cartas científicas

### Utilidad de un método comercial de detección antigénica en el diagnóstico de la gripe A (H1N1) pandémica

#### *Utility of a commercial antigenic detection method for diagnosing pandemic influenza a (H1N1)*

Sr. Editor:

La rápida expansión y diseminación de la actual gripe A (H1N1) pandémica ha tenido una intensa repercusión sobre los sistemas sanitarios, tanto de atención médica como de necesidades diagnósticas<sup>1</sup>.

En la actualidad existen básicamente 4 técnicas diagnósticas frente a la nueva gripe, las mismas que frente a la gripe estacional<sup>2</sup>. Las técnicas de detección antigénica rápidas se caracterizan por su sencillez y rapidez, pero tienen el inconveniente de su baja sensibilidad, incluso en la gripe estacional<sup>2-6</sup>. El cultivo shell vial se ha mostrado como una buena técnica diagnóstica, ya que su positividad demuestra la presencia de virus replicativos en la muestra. Sin embargo, precisa de 1–3 días para obtener un diagnóstico específico<sup>2,7</sup>. En ambas técnicas solo se puede establecer el diagnóstico de gripe A (H1N1), de modo que se precisan de técnicas adicionales para confirmar que se trata de una gripe A (H1N1) pandémica<sup>4-6</sup>. La técnica recomendada por su rapidez, sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de la actual gripe A (H1N1) pandémica es la PCR-RT<sup>8</sup>. Con esta técnica se obtiene la confirmación de que la cepa detectada en la muestra es la verdadera gripe A (H1N1) pandémica, que circula en el mundo. Finalmente, los estudios de respuesta serológica tienen escasa utilidad en el diagnóstico clínico rápido y deberían utilizarse para estudios epidemiológicos<sup>3-5</sup>.

Debido al incremento de muestras que se reciben en los laboratorios para el diagnóstico rápido de la gripe A (H1N1) pandémica, se decidió utilizar una técnica antigénica rápida para valorar su utilidad y aplicabilidad en esta situación clínica.

Así, durante el mes de julio se han estudiado de forma prospectiva 201 muestras respiratorias con sospecha clínica de infección gripal pandémica. La detección antigénica rápida se realizó con el sistema de inmunocromatografía (IC) comercial Directigen EZ Flu A+B (Becton & Dickinson, EE.UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. Asimismo, cada muestra fue sembrada en viales de la línea celular MDCK (Vircell, Granada, España) e incubados 24–48 h a 36 °C. Las monocapas fueron reveladas con un anticuerpo monoclonal específico para el virus gripal A (Monofluo Kit Influenza, BioRad, Irlanda) mediante una técnica de inmunofluorescencia indirecta. El estudio comparativo entre el sistema de IC y el cultivo shell vial se realizó durante el período en que la PCR-RT específica frente al virus gripal A (H1N1) pandémico no estaba operativa.

A todas las muestras se les realizó la detección antigénica rápida al cumplir los criterios de ingreso hospitalario, siendo globalmente positiva en 19 casos (9,4%). El cultivo shell vial dio como positivas a gripe A (H1N1) 81 muestras (40,2%), de ellas 19 (23,4%) lo fueron inicialmente en la técnica antigénica de IC.

En comparación con el cultivo shell vial, la técnica antigénica de IC ha presentado una sensibilidad del 23,4%, una especificidad del 100% (todas las muestras positivas en la IC crecieron en el cultivo shell vial), un valor predictivo positivo del 100% y un valor predictivo negativo del 65,9%.

La técnica de IC analizada no está diseñada para el diagnóstico específico de la gripe A (H1N1) pandémica; sin embargo, al utilizar la nucleoproteína como antígeno a detectar, permite la posibilidad de detectar este tipo de cepas<sup>2,7</sup>. Como puede observarse, la sensibilidad de esta técnica ha sido muy baja (23,4%), por lo tanto, no puede utilizarse ni recomendarse como técnica rutinaria de diagnóstico rápido. La principal causa de esta baja sensibilidad parece deberse a la necesidad de una elevada carga viral en la muestra para dar una reacción positiva. Esta hipótesis ha sido confirmada por el estudio del CDC, que con este mismo sistema de IC obtienen una sensibilidad global del 49%. Al comparar con la PCR-RT, observan cómo la detección antigénica presenta una sensibilidad del 80% cuando la muestra es positiva antes de los 20 ciclos, lo cual demuestra una elevada carga viral en la muestra. La sensibilidad de la misma va disminuyendo a medida que la PCR-RT necesita de un mayor número de ciclos para ser positiva (16% de sensibilidad en más de 30 ciclos)<sup>4</sup>.

Una de las posibles ventajas de la técnica de IC es su especificidad y valor predictivo positivo (100%), es decir, si la técnica es positiva, es seguro que el virus gripal A está en la muestra y, además, en una elevada concentración viral. Prueba de ello es que en los casos positivos en la IC, el cultivo shell vial a las 24 h fue siempre positivo, lo cual permitía realizar el diagnóstico de una forma rápida, aunque en ambos casos requería una confirmación posterior de que la cepa aislada era una gripe A (H1N1) pandémica<sup>3,4,6</sup>.

Uno de los posibles inconvenientes de la utilización rutinaria de la técnica de IC es el elevado coste de la misma, frente al bajo rendimiento diagnóstico de la misma. Sin embargo, en nuestro laboratorio la utilizamos de forma rutinaria desde hace años y, por lo tanto, no ha incrementado el coste total del proceso diagnóstico<sup>9</sup>. El cultivo shell vial es una técnica laboriosa, pero permite disponer de la cepa gripal para, posteriormente, realizar estudios de caracterización antigénica y sensibilidad frente a los antivirales específicos<sup>7</sup>.

Por lo tanto, a pesar de la baja sensibilidad de la IC, creemos que podría utilizarse en aquellos pacientes ingresados graves en los cuales podría preverse una elevada carga viral. Como apunta el CDC, la positividad en esta prueba debería utilizarse para iniciar decisiones terapéuticas, clínicas y epidemiológicas sin esperar a otras positividades<sup>4</sup>. Sin embargo, debe recordarse que la negatividad en las técnicas rápidas no excluye la infección gripal y, por lo tanto, los aspectos clínicos y epidemiológicos del paciente deben prevalecer sobre este diagnóstico inicial. En las actuales circunstancias epidemiológicas en las que se ha realizado este estudio (finales de julio), se consideró que toda IC positiva a gripe A (H1N1) y cultivo shell vial positivo a gripe A (H1N1) debían ser considerados como gripe A (H1N1) pandémica. Todas las cepas aisladas de gripe A (H1N1) en este período fueron remitidas al Centro Nacional de Microbiología (Majadahonda, Madrid) y fueron confirmadas como cepas gripales A (H1N1) pandémicas.

## Bibliografía

1. CDC Update: novel influenza A(H1N1) virus infections-worldwide. *MMWR*. 2009;58:453–8.
2. Reina J, Plasencia V, Leyes M, Nicolau A, Galmés A, Arbona G. Estudio comparativo entre una técnica de reacción en cadena de la polimerasa en transcripción reversa en tiempo real, un método de enzimoimmunoanálisis y el cultivo shell-vial en la detección de virus gripales A y B en pacientes adultos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2009;27. doi:10.1016/j.eimc.2008.11.021.
3. Chan KH, Lai ST, Poon LL, Guan Y, Yuen KY, Peiris JS. Analytical sensitivity of rapid influenza antigen detection tests for swine-origin influenza virus (H1N1). *J Clin Virol*. 2009;45:205–7.
4. CDC. Evaluation of rapid influenza diagnostic test for detection of novel influenza A (H1N1) virus-United States, 2009. *MMWR*. 2009;58:826–9.
5. Faix DJ, Sherman SS, Waterman SH. Rapid-test sensitivity for novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med*. 2009 doi:10.1056/NEJMCO904264.
6. Uyekü TM, Prasad R, Vukotich C, Stebbins S, Rinaldo CR, Ferng YH, et al. Low sensitivity of rapid diagnostic test for influenza. *Clin Infect Dis*. 2009;48: e89–92.
7. 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 viral antigens from respiratory samples. *J.Clin.Microbiol*. 2002;40:3515–7.
8. WHO. Protocol of realtime RT-PCR for influenza A (H1N1). [http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/CDCRealtimeRTPCR\\_SwineH1Assay-2009\\_20090430.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/CDCRealtimeRTPCR_SwineH1Assay-2009_20090430.pdf).
9. Reina J, Ferrés F, Marinescu C. Utilidad de la detección antigénica rápida frente a los virus gripales en la población pediátrica. *An Pediatr (Barc)*. 2009;71:178–81.

Jordi Reina \* y Corin Prades

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

\*Autor para correspondencia.

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

doi:10.1016/j.eimc.2009.09.008

## Prevalencia del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) subtipo 1 con tropismo R5 en pacientes infectados por el VIH-1 pretratados en España

### Human immunodeficiency virus (HIV) type 1 with R5 tropism among HIV-1 antiretroviral-experienced patients in Spain

Sr. Editor:

## Introducción

Los ensayos clínicos con maraviroc y con otros inhibidores de la entrada del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)-1 así como un número reducido de estudios observacionales han proporcionado información limitada sobre la epidemiología del tropismo del VIH-1 entre pacientes pretratados<sup>1</sup>. Sin embargo, se conoce poco de los distintos patrones de distribución del tropismo en la mayoría de los países. Por esta razón, se consideró necesario establecer la prevalencia del VIH-1-R5 en nuestro país.

## Pacientes y diseño

El objetivo del presente análisis fue estimar la prevalencia del tropismo de VIH-1 en pacientes pretratados en España. Se incluyó a todos los pacientes españoles participantes en el programa de acceso expandido (expanded access program) para maraviroc (A4001050; agosto de 2007-enero de 2008), a los que solicitaron el acceso al fármaco por el programa de uso compasivo (julio de 2007-enero de 2008) y a los pacientes incluidos en el estudio

ALLEGRO (A4001077; enero-junio de 2008). Para acceder al programa de acceso expandido o al programa de uso compasivo, los pacientes tenían que demostrar resistencia al menos a 2 de las 3 familias clásicas de antirretrovirales (ITIAN, ITINAN, IP) y una historia previa de tratamiento antirretroviral que justificara la necesidad de utilizar este nuevo fármaco ante la imposibilidad de crear una combinación de rescate de fármacos activos con los medicamentos ya comercializados. En el caso del estudio ALLEGRO, solo tenían como criterio de inclusión una carga viral detectable. A todos los pacientes se les realizó el test original Trofile™ (Monogram Biosciences, South San Francisco, California, EE. UU.)<sup>2</sup>. En todos los casos se trataba de adultos infectados por el VIH-1 con una carga viral > 1.000 copias/mm<sup>3</sup> en el momento de la prueba. *Estadística*. Se utilizaron métodos descriptivos, los datos se expresaron en valores absolutos o en porcentajes. Se utilizó un modelo de regresión logística para identificar la asociación entre las covariables clínicas y el tropismo R5. Los datos se analizaron con el software SAS v. 8.2.

## Resultados

Nuestro análisis incluyó un total de 865 pacientes, sus características generales se muestran en la [tabla 1](#). Se excluyeron del análisis, debido a un Trofile™ *no reportable*, 125 casos (14%). El test de tropismo demostró una prevalencia mayoritaria del VIH-1-R5 (el 66% de los pacientes, n=488), mientras que el D/M se detectó en el 31% (n=229) y el X4 en tan solo el 3% (n=23). El 15% de los sujetos de nuestro análisis estaba en una tercera línea de tratamiento y el 68% en la cuarta línea o superior. El análisis de las covariables clínicas asociadas al

**Tabla 1**

Características principales de la población (estudio ALLEGRO, programa de acceso expandido y programa de uso compasivo)

	Estudio ALLEGRO (n=4.960)	EAP (n=286)	EAP-España (n=83)
Edad media en años, media (rango)	44 (35–52)	ND	40 (33–55)
Varones, n (%)	357 (72)	210 (73)	75 (90)
Caucásicos, n (%)	466 (94)	265 (93)	ND
CD4+ células/mm <sup>3</sup> , mediana (rango)	261 (140–410)	239 (47–239)	180 (15–250)
VIH-1/ARN (copias/ml), media	92.526	200.709	210.000

ARN: ácido ribonucleico; EAP: expanded access program 'programa de acceso expandido'; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.