

591

OBTENCIÓN DE RESULTADOS POSITIVOS MEDIANTE LA PRUEBA BINAX NOW *LEGIONELLA* URINARY TEST PASADO EL PERIODO DE INTERPRETACIÓN

C. Aspichueta, M.J. Unzaga, P. Velasco, B. Amezua, M.P. Barrio, C. Ezpeleta y R. Cisterna
Servicio de Microbiología. Hospital Basurto. Bilbao, Vizcaya.

Objetivo: Destacar la importancia de observar el resultado de este test rápido ICT durante la hora posterior a su realización y no sólo al de 15 minutos como indica el procedimiento.

Material y métodos: Se evaluaron 204 orinas desde el 20 de diciembre de 2000 al 15 de octubre de 2001 (10 meses). Todas ellas se testaron mediante el test rápido por inmunocromatografía de membrana (ICT) del antígeno soluble de *Legionella pneumophila* serogrupo 1 en orina, y se confirmaron por el ensayo inmunoenzimático (*Legionella* Urinary Antigen EIA, Binax) con la orina sin concentrar, y cuando los resultados son cercanos al cut-off con la orina concentrada.

La ICT se considera positiva cuando aparece una banda de cualquier intensidad en la prueba y el EIA cuando el cut-off es mayor de 3.

Resultados: De las 206 orinas testadas, 177 (87%) fueron negativas por los dos métodos (ICT y ELISA) y 29 (13%) fueron positivas con distintos resultados según la técnica: 16 (59%) fueron positivas por el ICT en 15 minutos y por ELISA, 8 (30%) fueron positivas cuando la lectura de la ICT se produjo en el transcurso de la hora posterior a su realización, lo que se confirmó mediante el ELISA en todos los casos y 5 (18%) que fueron ICT (-) y ELISA(-), con un cut-off de aproximadamente 2, se les repitió el ELISA con la orina concentrada y se obtuvieron resultados positivos.

Conclusiones: 1) Se consiguió un 30% más de resultados positivos mediante la lectura de la ICT posterior a los 15 minutos recomendados (todos ellos confirmados por ELISA). 2) La sensibilidad de la ICT al de 15 minutos comparada con el ELISA es de un 66%, mientras que realizando la lectura posteriormente las sensibilidades del ICT y del ELISA se equiparan (refiriéndonos siempre a orinas no concentradas).

592

DETECCIÓN DEL ANTÍGENO DE *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* EN MUESTRAS DE ORINA MEDIANTE TRES TÉCNICAS

C.M. Toldos, C. Guerrero, G. Yagüe, T. Rodríguez y M. Segovia.
Servicio de Microbiología. Hospital Morales Meseguer. Murcia.

Objetivo: Evaluar tres técnicas (BinaxNOW inmunoenzayo cromatográfico, inmunoenzayo Biotest *Legionella* Urin Antigen EIA y Bartels ELISA *Legionella* Urinary Antigen) para la detección del antígeno de *Legionella pneumophila* en muestras de orina.

Método: Se analizaron un total de 187 muestras de orina inicialmente positivas para antígeno de *L. pneumophila* mediante la técnica de Biotest. Las tres técnicas fueron aplicadas a la totalidad de muestras de orina tanto no concentradas como tras concentración.

Resultados: En el estudio del total de orinas sin concentrar, el 87,7% (164 muestras) fueron positivas por Biotest y el 94,1% (176) por Bartels ELISA, frente a un 47,6% (89) de positivas por BinaxNOW. Tras concentración de la muestra, el porcentaje de positivos detectado por BinaxNOW aumentó hasta un 93,5% (175), mientras que con Biotest y Bartels ELISA sólo fueron detectadas 4 y 5 orinas positivas adicionales, lo que supuso unos porcentajes de orinas positivas del 97,3% (182) y 97,8% (183), respectivamente.

Conclusiones: No se observan diferencias estadísticamente significativas en la detección del antígeno por las tres técnicas

cuando se utiliza la muestra concentrada. Con orinas sin concentrar existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) al comparar Binax con las otras dos técnicas de EIA.

593

DIAGNÓSTICO DE LEGIONELOSIS POR DETECCIÓN DE ANTÍGENO EN ORINA Y SU RELACIÓN CON IFI Y CULTIVO

E. Simarro, M.D. Navarro, F.E. Fornés, E. Serra, C. Márquez, J. Pérez y J. Ruiz
Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Objetivo: Analizar la relación de una técnica de inmunocromatografía en orina para el diagnóstico de *Legionella* con IFI y cultivo en el brote de Murcia.

Métodos: A 104 pacientes con sospecha de neumonía por *Legionella*, se les realizó pruebas diagnósticas para detectar Ag en orina por la técnica inmunocromatográfica Binax Now (Leti) y serología por IFI (Vircell), siguiendo las instrucciones de los respectivos fabricantes. No obstante, las muestras de orina se trataron previamente por calentamiento a 100 °C durante 5 min, centrifugación a 3.000 rpm durante 15 min y ultrafiltración en filtros MINICON (Amicon) para concentrarlas 20 veces. A otros 13 pacientes con cultivo positivo, también se les determinó el Ag en orina.

Resultados: De los 104 pacientes, 73 (70%) tenían Ag en orina positivo, 57 con IFI positiva y 16 negativa. La relación de los Ag positivos con los títulos de IFI fue: 8 (1/128), 14 (1/256), 11 (1/512), 9 (1/1.024), 9 (1/2.048) y 7 (> 1/2.048). De los 31 pacientes con Ag negativo, 14 tenían IFI positiva con los siguientes títulos, 1 (1/128), 3 (1/256), 2 (1/512), 3 (1/1.024), 5 (1/2.048). A 10 (77%) pacientes de 13 con cultivo positivo para *L. pneumophila* serogrupo 1 se les detectó Ag en orina. De 71 pacientes con IFI positiva, 51 tenían Ag en orina positivo (72%).

Conclusiones: 1) La IFI y la detección de Ag en orina por inmunocromatografía, son complementarias para el diagnóstico de legionelosis. 2) La detección de Ag en orina no guarda relación con los títulos de Ac obtenidos en la serología. 3) La sensibilidad del Binax Now frente al cultivo fue del 77% y frente a la IFI del 72%, resultando una sensibilidad combinada del 73%.

594

RENDIMIENTO DE LA IFI DURANTE UN BROTE DE *L. PNEUMOPHILA* EN MURCIA

M.D. Navarro, F.E. Fornés, E. Serra, E. Simarro, C. Márquez y J. Ruiz

Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Objetivo: Analizar el rendimiento de la determinación de anticuerpos frente a *L. pneumophila* mediante IFI durante un brote de *L. pneumophila*.

Material y métodos: Durante un brote de *L. pneumophila* en Murcia (julio 2001), en nuestro hospital se recogieron muestras serológicas de 126 pacientes con sospecha de neumonía por *L. pneumophila*. A todos ellos se les realizó la técnica de IFI (*Legionella pneumophila* Vircell®), siguiendo las instrucciones del fabricante. Inicialmente se analizaron las 1^{as} muestras correspondientes al comienzo de la enfermedad. Posteriormente se analizaron juntas esa 1^a muestra y una 2^a recogida a las 3-4 semanas y finalmente de las que resultaron negativas una 3^a muestra (junto a la 2^a) a las 6-10 semanas.
Resultados: De los 126 pacientes estudiados, 85 (67%) fueron diagnosticados por IFI, 11 con la 1^a muestra, 67 con la 2^a y 7 con la 3^a. Teniendo en cuenta que sólo 16 pacientes de los 48 diagnosticados como negativos con las dos 1^{as} extracciones volvieron a las 6-10 semanas, el rendimiento de esta 3^a muestra fue alto, 7 de 16 (44%). Analizando los diagnósticos por la

gravidad de los pacientes, ingresados o no ingresados, las diferencias fueron significativas. En 60 de 77 ingresados la IFI fue positiva (78%), frente a 25 de 49 (51%) del 2º grupo. El análisis por edad también reveló diferencias, de 26 pacientes ≥ 65 años, 13 (50%) tuvieron IFI positiva mientras que fue positiva en 27 de 37 pacientes < 65 años (73%). En 9 de 9 pacientes con cultivo de esputo positivo la IFI fue positiva.

Conclusiones: 1) Por IFI se obtuvo un aceptable rendimiento (67%). 2) Las 1ª muestras pudieron establecer el diagnóstico en 9% de los pacientes. 3) La muestra de la 3ª-4ª semana no es suficiente, necesitando una 3ª a las 6-10 semanas para mejorar el rendimiento. 4) En todos los casos de cultivo positivo con IFI, esta fue positiva. 5) La gravedad y edad (> 65) años influyeron en los resultados.

595

ESTUDIO DE ANTICUERPOS CONTRA *LEGIONELLA PNEUMOPHILA*

R. Tejero, J. Muñoz, M.J. Lacasa, R. Gordillo, R. Bañón, A. Ibarra, F. Rodríguez, F. Solís, J. Gutiérrez y M. Casal
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Objetivos: Valorar la presencia de anticuerpos frente a *Legionella pneumophila* en los pacientes remitidos para estudio serológico por neumonía atípica u otros procesos de sintomatología pulmonar.

Material y métodos: Se han determinado anticuerpos frente a *Legionella pneumophila* con diversos métodos comerciales. **Serie A:** (6/1986 a 5/1989) 471 sueros pertenecientes a 401 pacientes, de los cuales se dispuso en 54 casos de muestra convaleciente, y 16 como otras muestras de estos mismos pacientes. La técnica empleada fue la fluorescencia indirecta con antígeno polivalente. **Serie B:** (1/1994 a 12/1999) 1.990 sueros pertenecientes a 1.989 pacientes y la técnica empleada fue la fluorescencia indirecta con antígeno polivalente, confirmados los sueros positivos con IFI monovalentes. **Serie C:** (1/2000 a 12/2000) 509 sueros pertenecientes a 479 pacientes. La técnica empleada fue ELISA serogrupos 1-6. **Serie D:** (1/2001 a 8/2001) 440 sueros pertenecientes a 389 pacientes. La técnica empleada fue ELISA serogrupo 1, confirmada por IFI serogrupo 1.

Resultados: **Serie A:** negativos 322, reactivos 79 (18,9%), total 401; **serie B:** negativos 1622, reactivos 368 (17,4%), total 1990; **serie C:** negativos 323, reactivos 156 (32,6%), total 479; **serie D:** negativos 366, reactivos 24 (6,2%), total 390

Conclusión: En el período de tiempo y tipo de pacientes estudiados el porcentaje de sueros reactivos cuando se emplea reactivos polivalentes está en un rango de 18,9 a 32,6% superior al encontrado de 6,2 a 17,4% cuando se emplean reactivos monovalentes.

596

RESULTADO DE UNA TÉCNICA DE ELISA (SERION ELISA) FRENTE A IFI EN EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE *L. PNEUMOPHILA* DURANTE UN BROTE

F.E. Fornés, M.D. Navarro, E. Serra, E. Simarro, C. Márquez y J. Ruiz
Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Objetivo: Evaluar el resultado de una técnica automatizada de ELISA frente a la técnica de referencia (IFI) en pacientes de un brote de *L. pneumophila*.

Material y métodos: Durante el brote de *L. pneumophila* en Murcia (julio 2001) se obtuvieron muestras comparables de 117 pacientes sospechosos de padecer neumonía por *L. pneumophila*. De todos ellos, se recogieron dos muestras de suero: una al comienzo y otra a las 3-4 semanas de la enfermedad. La técnica ELISA (SERION ELISA Ig G[®]) se realizó

en un sistema automático (Triturus[®] Diagnostic Grifols S.A.) y la IFI (*L. pneumophila* VIRCELL[®]) de modo manual siguiendo las instrucciones del fabricante.

Resultados: De los 117 pacientes analizados, 79 (67%) fueron positivos por alguna de las dos técnicas. En 47 ocasiones (40%) por ambos, en 16 (14%) por IFI únicamente, y en 1 caso (0,85%) por ELISA solo, sin confirmarse éste por otra técnica diagnóstica (detección de antígeno en orina o cultivo). En otros 15 pacientes (13%) con IFI negativa, el resultado del ELISA fue indeterminado. En 11 y 3 pacientes el ELISA fue positivo e indeterminado respectivamente en la primera muestra, frente a los 11 positivos claros y 5 con título de 128 que se obtuvieron por IFI. De los 15 ELISA indeterminados en la segunda muestra, los resultados de la IFI en título fueron: 4 (128); 2 (256); 2 (512); 3 (1.024); 4 (2.048).

Conclusiones: 1) El rendimiento del Elisa empleado fue inferior a la IFI: 40% frente a 67% de diagnósticos. 2) El número de resultados dudosos, indeterminados, fue elevado (13%). Estos resultados indeterminados fueron positivos por IFI en todos los casos, con al menos un título de 128. 3) Por la técnica ELISA se obtuvo un resultado falso positivo.

597

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A ÁCIDOS TEICOICOS EN LAS INFECCIONES PROFUNDAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

M. Lamata y J. Leiva
Clínica Universitaria de Navarra

Objetivos: En el diagnóstico de infecciones producidas por *S. aureus* se han aplicado diferentes técnicas para detectar anticuerpos frente a ácidos teicoicos. Se han descrito bastantes limitaciones, por lo que su uso está bastante contrvertido. Nuestro objetivo fue estudiar la presencia de anticuerpos frente a ácidos teicoicos en sueros de pacientes con infecciones profundas producidas por *S. aureus*.

Material y métodos: Se estudiaron 43 sueros de pacientes diagnosticados de infección por *S. aureus*: 25 bacteriemias, 1 osteomielitis, 4 infecciones asociadas a prótesis, 4 abscesos profundos, 3 infecciones de heridas, 1 neumonía, 1 infección abdominal, 1 infección asociada a catéter, 1 artritis infecciosa, 1 infección crónica de piel y 1 meningitis. Los anticuerpos frente a los ácidos teicoicos se detectaron mediante la técnica Endo-Staph Teichoic acid antibody test (Meridian Diagnostic), basado en la técnica de inmunoprecipitación de Ouchterlony. Se consideró la prueba positiva cuando aparecían títulos mayores o iguales de 1/4. En estos casos el resultado se correlaciona con infección grave por *S. aureus* (endocarditis, osteomielitis, infecciones profundas, artritis sépticas y neumonitis), según recomendaciones de la técnica.

Resultados y conclusiones: De los 43 sueros probados tan sólo 5 dieron título mayor o igual a 1/4: 1 paciente con osteomielitis, 2 con bacteriemia, 1 infección abdominal y una artritis infecciosa. La sensibilidad obtenida fue del 11,6%.

La detección de anticuerpos frente a ácidos teicoicos en las infecciones por *S. aureus* presentó muy baja sensibilidad, no detectándose títulos significativos en pacientes con infección profunda: 23 bacteriemias, 4 infecciones asociadas a prótesis, 3 abscesos y 3 heridas profundas, 1 líquido ascítico y 1 catéter.

598

CORRELACIÓN ENTRE UN ELISA COMERCIAL Y EL TEST DE NEUTRALIZACIÓN IN VITRO PARA LA DETECCIÓN DE IgG ANTIDIFTERIA

M. Español, C. Muñoz y G. Prats
Servei de Microbiologia. Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Objetivos: Determinar la utilidad de una técnica comercial de ELISA para la detección de anticuerpos IgG antidifteria y su correlación con la técnica de neutralización in vitro en cul-