

ORIGINAL BREVE

## Rentabilidad de las muestras respiratorias pediátricas en la red centinela de vigilancia de la gripe en las Islas Baleares

J. Reina<sup>a,\*</sup>, A. Nicolau<sup>b</sup>, A. Galmes<sup>b</sup>, B. Arbona<sup>b</sup> y la Red Centinela de Vigilancia de la Gripe de las Islas Baleares

<sup>a</sup>Centro Referencia de la Gripe, Unidad de Virología, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Dureta, Palma de Mallorca, España

<sup>b</sup>Servicio de Epidemiología, Consellería de Salud, Gobierno de las Islas Baleares, Palma de Mallorca, España

Recibido el 20 de octubre de 2008; aceptado el 5 de enero de 2009

Disponible en Internet el 18 de abril de 2009

### PALABRAS CLAVE

Gripe A;  
Gripe B;  
Red centinela;  
Rentabilidad  
de muestras

### Resumen

**Introducción:** La gripe es una enfermedad mundialmente vigilada a través de las redes centinela (RC) que predicen el comportamiento epidemiológico y comunican los datos clínicos y virológicos.

**Objetivos:** Evaluar la rentabilidad de las muestras respiratorias pediátricas en la RC de las Islas Baleares en las últimas 5 temporadas gripales.

**Material y pacientes:** Se tomó un frotis faríngeo para cultivo vírico de los pacientes que cumplían los criterios de gripe. Se inocularon las muestras en la línea celular MDCK. Se revisaron los datos epidemiológicos de cada paciente con cultivo positivo para los virus gripales A y B.

**Resultados:** Durante el período de estudio se analizaron 338 frotis faríngeos de la RC. De éstos, 65 (19,3%) pertenecían a menores de 14 años. El 44,6% de estas muestras fueron positivas frente al 39,1% de las muestras de adultos. El virus gripal A se aisló en 24 muestras pediátricas (82,7%) y el virus gripal B se aisló en 5 muestras (17,3%). La edad media de los pacientes positivos de la RC fue de 8,5 años. En el grupo de 0 a 4 años sólo fueron positivos 3 pacientes (10,3%) y en el grupo de 5 a 14 años fueron positivos 26 pacientes (89,7%).

**Conclusiones:** A pesar de que los pediatras sólo representan el 22% de los médicos de la RC y aportan el 19,3% de las muestras, el porcentaje de positividad y rentabilidad de éstas es superior al de la población adulta.

© 2008 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

\*Autor para correspondencia.

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

**KEYWORDS**

Influenza A;  
Influenza B;  
Sentinel network;  
Sample diagnostic  
yield

## Diagnostic yield of paediatric respiratory samples in the Balearic Islands Sentinel Influenza Surveillance Network

**Abstract**

*Introduction:* Influenza disease is subjected to surveillance by national networks (RC) that predict the epidemic behaviour by reporting clinical and virological data.

*Objectives:* To evaluate the effectiveness of the paediatric respiratory samples in the Balearic Islands RC in the last five epidemic seasons.

*Material and patients:* A breath sample was taken from paediatric patients in the RC who had flu symptoms. The samples were inoculated in the MDCK cell line. We reviewed the epidemiological data of patients with a culture positive to influenza A and B.

*Results:* A total of 338 pharyngeal swabs from the RC were analysed during the study period. Of these, 65 (19.3%) belonged to < 14 years old patients, and 44.6% of the samples were positive as opposed to 39.1% of adult respiratory samples. The influenza A virus was isolated in 24 paediatric samples (82.7%) and the influenza B virus in 5 (17.3%). The mean age of the paediatric patients of the RC who were positive was 8.5 years. Only 3 patients in the 0–4 year old group were positive (10.3%) and 26 patients (89.7%) in the 5–14 years old group.

*Conclusions:* In spite that paediatricians represented only 22% of the RC doctors and obtain the 19.3% of all respiratory samples, the percentage and effectiveness of these is higher than that obtained in the adult population.

© 2008 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

**Introducción**

La gripe es una enfermedad infecciosa de origen vírico que afecta de forma periódica a la población humana. Los virus gripales A y B (virus influenza A y virus influenza B) son los principales agentes etiológicos de esta entidad. La gripe se presenta como brotes epidémicos cada año (temporada epidémica), preferentemente entre los meses de diciembre y febrero. La morbilidad de ésta varía ampliamente según las características antigénicas y genéticas de las cepas circulantes, su concordancia con la composición vacunal y las características propias del ser humano. Entre estas últimas es especialmente importante la edad del paciente infectado por estos virus<sup>1-4</sup>.

Diferentes estudios han demostrado que la población pediátrica es la más susceptible a la infección gripal, especialmente la cohorte con edad inferior a los 4 años; además, en esta población la carga vírica es mucho más elevada y el período de excreción es mucho más prolongado. Epidemiológicamente, se considera a esta población como la causante de la introducción, expansión y mantenimiento de la infección gripal en la comunidad, lo que la convierte en epidémica<sup>2,4,5</sup>.

Dada la importancia de la gripe en la salud pública de la población, desde hace años se tomó la decisión de utilizar mecanismos epidemiológicos de vigilancia y control de ésta. De este modo se crearon las redes de vigilancia epidemiológica y virológica de la gripe (redes centinela [RC]). En la actualidad, casi todas las comunidades autónomas disponen de una RC constituida por un laboratorio primario de virología y una red de médicos centinela. Esta RC está constituida tanto por médicos de familia (vigilancia de la población adulta) como por pediatras,

aunque la proporción de éstos puede variar en diferentes áreas geográficas.

La gripe en los pacientes con edad inferior a los 4 o 5 años no presenta la misma sintomatología que en edades superiores. Cuanto más pequeño es el paciente, mayor dificultad para poder diferenciar etiológicamente las infecciones respiratorias agudas o cuadros de bronquiolitis<sup>5,6</sup>. Por esto, el diagnóstico clínico por el que se sospecha gripe generalmente no puede hacerse con cierta aproximación hasta edades superiores a los 5 o 6 años y, preferentemente, a partir de los 14 años<sup>7,8</sup>.

Como consecuencia de esto, los pediatras que participan en la RC deben seleccionar para la toma de muestras a aquellos pacientes que cumplan con los criterios de gripe, lo que dificulta el proceso. Para evaluar ese esfuerzo se ha realizado un estudio prospectivo sobre la rentabilidad de las muestras respiratorias pediátricas (menores de 14 años) tomadas en la RC de la gripe.

**Pacientes y métodos**

Se han utilizado como criterios de gripe (según la definición de caso del Código 487 CIPSAP)<sup>9</sup> los siguientes: cuadro de aparición aguda (inferior a 12 h), fiebre elevada, escalofríos, postración, tos, artromialgias y faringitis, además de contacto previo con un caso de gripe. Se sospecha un caso de gripe si se cumplen 6 de los criterios anteriores sin circulación vírica o 4 si hay constancia de la circulación de los virus gripales.

Se tomó una muestra de frotis faríngeo de cada uno de los pacientes que cumplían los criterios y se rellenó una hoja con los datos epidemiológicos. Se remitieron las muestras al

laboratorio de virología en un medio de transporte para virus. Las diferentes muestras se sembraron en viales de la línea celular MDCK (Vircell, Granada) y se incubaron a 36 °C durante 3 días. Se fijaron las monocapas con acetona a -20 °C y se tiñeron con anticuerpos monoclonales específicos frente a los virus gripales A y B (BioRad FluAB, Irlanda) mediante una inmunofluorescencia indirecta.

Se revisaron los datos epidemiológicos y la sintomatología clínica de los pacientes a partir de las hojas epidemiológicas de cada uno.

## Resultados

Durante las 5 últimas temporadas gripales (2003 a 2008) se estudiaron 338 frotis faríngeos procedentes de la RC. De éstos, 65 (19,3%) pertenecían a pacientes menores de 14 años y 273 (80,7%) pertenecían a pacientes adultos ( $p < 0,05$ ). Globalmente, de las muestras pediátricas, 36 (55,4%) se consideraron negativas y 29 (44,6%) se consideraron positivas (aislamiento del virus gripal). En las muestras de adultos el porcentaje de positividad fue globalmente del 39,1% ( $p > 0,05$ ).

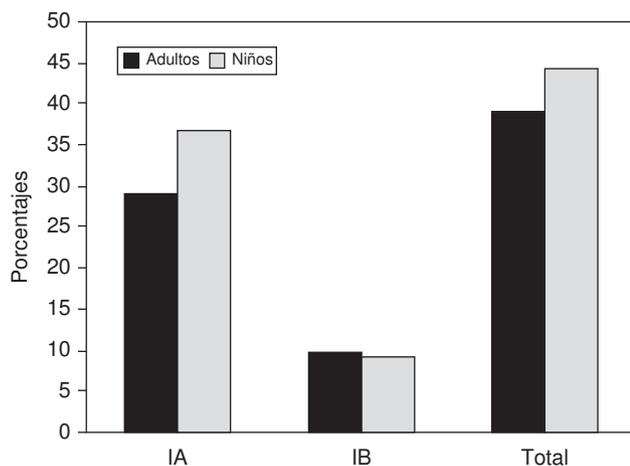
En los 29 pacientes pediátricos se pudo aislar el virus gripal A en 24 casos (82,7%) y se pudo aislar el virus gripal B en 5 casos (17,3%) ( $p < 0,05$ ). En esta población, el virus gripal A fue positivo en 24 pacientes (36,9%) y el virus gripal B fue positivo en 5 pacientes (7,6%).

En la población adulta, los porcentajes de positividad para el virus gripal A y B fue del 74,7 y del 25,3%, respectivamente. La positividad global frente al virus gripal A fue del 29,3% y frente al virus gripal B fue del 9,8%.

En la figura 1 se exponen los porcentajes de positividad frente a los 2 virus gripales y sobre el total de muestras estudiadas.

En la tabla 1 se exponen los datos comparativos entre la población pediátrica y la adulta.

La edad media global de los 29 pacientes pediátricos con cultivo positivo de la RC fue de 8,5 años (intervalo de 2 a 14 años). En el grupo epidemiológico de 0 a 4 años sólo se diagnosticaron 3 pacientes (10,3%) y en el grupo de 5 a 14 años se diagnosticaron 26 pacientes (89,7%) ( $p < 0,01$ ). Sin



**Figura 1** Porcentajes de positividad de las muestras respiratorias de la red centinela en función del virus gripal A (IA) y del virus gripal B (IB) y de la edad de los pacientes.

**Tabla 1** Características de las muestras respiratorias tomadas en la red centinela durante el estudio

Temporada	Adultos		Pediátrica	
	n (%)	n (%+)*	n (%)	n (%+)
2003-04	46 (82,1)	17 (36,9)	10 (17,9)	6 (60,0)
2004-05	42 (68,8)	20 (47,6)	19 (31,1)	7 (36,8)
2005-06	37 (80,4)	8 (21,6)	9 (19,6)	1 (11,1)
2006-07	74 (85,1)	30 (40,5)	13 (14,9)	4 (30,7)
2007-08	74 (84,0)	32 (43,2)	14 (16,0)	11 (78,5)
	273 (80,7)	107 (39,1)	65 (19,3)	29 (44,6)

\*Porcentajes positivos frente a los 2 virus gripales.

embargo, de los 555 casos de gripe declarados en la RC en la última temporada epidémica (2007-2008) el grupo de 0 a 4 años representó el 1,6% mientras que el grupo de 5 a 14 años representó el 12,6%.

La edad media de los 656 casos de gripe pediátrica diagnosticados en Urgencias de este hospital (desde 1995 hasta 2008) fue de 2,9 años (intervalo de un día a 14 años). La edad media fue de 1,6 años en las temporadas en las que sólo se detectó la circulación del virus gripal A, de 2,9 años si cocirculaban los virus gripales A y B y de 3,6 años si sólo se consideran los casos causados por el virus gripal B. En el grupo de 0 a 4 años se detectaron 508 casos (77,4%) y en el grupo de 5 a 14 años se detectaron 148 casos (22,6%) ( $p < 0,05$ ).

No se han obtenido diferencias significativas en los porcentajes de positividad en los criterios definitorios de caso entre los pacientes con cultivo positivo y negativo. En ambos grupos, los pacientes presentan la sintomatología exigida en el 86% de los casos. Tampoco se han observado diferencias entre los infectados por el virus gripal A o por el virus B.

## Discusión

En la actualidad, la RC de vigilancia de la gripe es una de las mejores herramientas epidemiológicas para el control y la prevención de la gripe. La participación de los pediatras en ellas es esencial, en tanto que las cohortes más afectadas por esta infección vírica son las que se sitúan entre los 0 y los 14 años. En ellas, y en casi todas las temporadas gripales, se alcanzan las mayores tasas de afectación<sup>5,6</sup>.

Una de las primeras diferencias entre los pacientes pediátricos estudiados en la RC y los que acuden a urgencias hospitalarias es el tipo de muestra respiratoria que se les toma. La muestra óptima para el diagnóstico etiológico de las infecciones respiratorias agudas, incluida la gripe, es el aspirado nasofaríngeo. Con este tipo de muestra se obtienen los porcentajes más elevados de positividad y aislamiento vírico<sup>10,11</sup>.

Por el contrario, los pediatras de la RC con la que trabaja este hospital utilizan el frotis faríngeo como muestra respiratoria para enviarla al laboratorio. Se ha comprobado que este tipo de muestra proporciona menor rentabilidad que los aspirados nasofaríngeos; sin embargo, estas muestras no pueden obtenerse en pacientes comunitarios<sup>10,11</sup>.

A pesar de la utilización de una muestra no óptima, se ha obtenido una positividad media del 44,6% y se ha alcanzado en la última temporada una positividad del 78,5%. Estos valores están por encima de los valores obtenidos en la población adulta y confirman la mayor carga vírica excretada por los niños con infección gripal, aunque el número de niños estudiados (con cultivo positivo) es todavía pequeño<sup>3,5,8</sup>.

Llama la atención que globalmente la rentabilidad de las muestras pediátricas en el diagnóstico de gripe B sea algo inferior a la rentabilidad obtenida en la población adulta (el 7,6 frente al 9,8%), aunque no es un dato estadísticamente significativo. Diferentes estudios han podido comprobar cómo la aparición de una nueva variación antigénica en las cepas gripales tipo B afecta preferentemente a la población pediátrica y se producen en ella las mayores tasas de ataque y aislamiento<sup>5,12-14</sup>. Curiosamente, las 2 temporadas en las que los porcentajes de positividad pediátrica han sido más altos correspondían a la circulación exclusiva de gripe A (temporada 2003-2004), con un 60%, y a la cocirculación pero con predominio de gripe B (última temporada) con un 78,5%.

En el diagnóstico de gripe A, los porcentajes obtenidos en la población infantil fueron globalmente algo superiores a la población adulta (el 36,9 frente al 29,3%). Probablemente la expresión clínica de la infección gripal A sea mucho más semejante a la que se observa en el adulto y se cumplan más fácilmente los criterios definitorios de caso, establecidos en base a la población adulta<sup>3,15,16</sup>. Sobre la base de la experiencia hospitalaria, se ha observado que las infecciones por el virus gripal B se han mostrado mucho más inespecíficas y atípicas que las observadas en la gripe A<sup>13,14</sup>.

Otro aspecto para destacar y que está implicado en los datos anteriores es la edad media de los pacientes pediátricos de la RC con cultivo positivo. Este valor ha sido de 8,5 años, edad en la que la sintomatología respiratoria ya no es tan inespecífica; por lo que puede realizarse un diagnóstico si se sospecha un caso de gripe y, por tanto, obtener la correspondiente muestra respiratoria. Salvo 3 casos de niños con edad inferior a los 4 años (en los que se presenta una auténtica dificultad en el diagnóstico diferencial), el resto (89,7%) eran mayores de 5 años.

Debido al bajo número de pacientes pediátricos con cultivo positivo de la RC no se pudo diferenciar entre infectados por el virus gripal A y el virus gripal B; sin embargo, en los casos estudiados en urgencias hospitalarias se observó que la edad media de todos era de 2,9 años, por tanto, muy inferior a la obtenida en la RC<sup>17,18</sup>. Parece evidente que los pacientes pertenecientes a la cohorte de 0 a 4 años (77,4%) acuden básicamente a las urgencias hospitalarias, ya sea por su mayor gravedad, corta edad o inespecificidad del cuadro respiratorio. Por tanto, puede decirse que los pediatras de la RC toman preferentemente muestras de los pacientes situados en la cohorte de 5 a 14 años, en la que es más fácil demostrar que cumplen los criterios definitorios de caso de gripe. Este hecho se confirma no sólo en la toma de muestras, sino también en el porcentaje de los casos sospechosos que declaran los pediatras<sup>17,18</sup>. En la última temporada gripal sólo el 1,6% de estos casos pertenecía a la cohorte de 0 a 4 años y el 12,6% pertenecía a la cohorte de 5 a 14 años.

La expresión clínica de los pacientes con cultivo positivo ha sido la exigida por los criterios de caso; en más del 85% de éstos se cumplían síntomas definitorios y no se han observado diferencias entre los pacientes con cultivo positivo y negativo ni entre los infectados por el virus de la gripe A o de la gripe B, aunque el bajo número de pacientes estudiados no permite establecer conclusiones definitivas. Sin embargo, datos muy parecidos se han comunicado en la población adulta de la RC<sup>18</sup>.

En definitiva, a pesar de que los pediatras (al menos en la RC que trabaja con este hospital) tan sólo representan el 22% de los médicos centinela y aportan sólo el 19,3% de las muestras respiratorias, la rentabilidad, en términos de positividad, aislamiento y caracterización gripal de éstas, es algo superior a la rentabilidad obtenida en la población adulta. Por esto, los autores de este artículo estiman que el papel del pediatra en la RC es esencial y quizás deba incrementarse numéricamente, aunque a lo mejor no con estrictos criterios epidemiológicos, dado que en los últimos años la gripe epidémica es una gripe básicamente pediátrica en todo el país.

## Bibliografía

- Murphy BR, Webster RG. Orthomyxoviruses. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*. 4ª ed. Philadelphia: Lippincott-Williams & Wilkins; 2001. p. 1533-80.
- Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Gruber WC, Piedra PA. Influenza virus infections in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16:1065-8.
- Nicholson KG. Human influenza. En: Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ, editors. *Textbook of influenza*. Oxford: Blackwell Science Ltd; 1999. p. 219-64.
- Hayden FG, Palese P. Influenza virus. En: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. *Clinical Virology*. 2ª ed. Washington DC: American Society for Microbiology; 2002. p. 891-920.
- Peltola V, Ziegler T, Ruuskanen O. Influenza A and B virus infections in children. *Clin Infect Dis*. 2003;36:299-305.
- Neuzil KM, Zhu Y, Griffin MR, Edwards KM, Thompson JM, Tollefson SJ, et al. Burden of interpandemic influenza in children younger than 5 years: A 25-year prospective study. *J Infect Dis*. 2002;185:147-52.
- Heikkinen T, Ziegler T, Peltola V, Lehtinen P, Toikka P, Lintu M, et al. Incidence of influenza in Finnish children. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:S204-6.
- Aymard M, Vallette M, Luciani J. Burden of influenza in children: Preliminary data from a pilot survey network on community diseases. *Pediatr Infect Dis J*. 2003;22:S211-4.
- Classification Committee of WONCA. Inclusion criteria for the use of the rubrics of the International Classification of Health Problems in Primary Care. En: *ICHPPC-2-defined*. New York: Oxford University Press; 1983. p. 487.
- Cruz JR, Quiñonez E, De Fernández A, Peralta F. Isolation of viruses from nasopharyngeal secretions: Comparison of aspiration and swabbing as means of sample collection. *J Infect Dis*. 1987;156:415-6.
- 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.
- Monto A, Gravenstein S, Elliot M, Colopy M, Schweinte J. Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Arch Intern Med*. 2000;160:3243-7.

13. Reina J, García C, Ferrés F, Alberto C, Del Valle JM, Munar M. Características clínicas de las infecciones respiratorias causadas por el virus Influenza tipo B. *Rev Esp Pediatr.* 1998;54:308–12.
14. Reina J, Ferrés F, Amo R, Gutiérrez O, Ruiz de Gopegui E, Munar M, et al. Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes infectados por el virus Influenza B/Hong Kong/330/2001 en las Islas Baleares (2002–2003). *Rev Esp Pediatr.* 2004;60:363–9.
15. Navarro Marí JM, Pérez Ruiz M, Cantudo Muñoz P, Petit Gancedo C, Jiménez Valera M, Rosa Fraile M. Influenza Surveillance Network in Andalusia. Influenza-like illness criteria were poorly related to laboratory-confirmed influenza in a sentinel surveillance study. *J Clin Epidemiol.* 2005;58:275–9.
16. Boivin G, Hardy I, Tellier G, Maziade J. Predicting influenza infection during epidemics with use of a case definition. *Clin Infect Dis.* 2000;31:1166–9.
17. Reina J, Ferrés F, Gutiérrez O, Figuerola J, Ruiz de Gopegui E, Balliu P, et al. Evolución de los grupos de edad y edad media de los pacientes pediátricos infectados por los virus gripales A y B durante el período 1995–2005. *Rev Esp Pediatr.* 2006;62:143–9.
18. Reina J, Nicolau A, Galmes A, Red de Vigilancia de la Gripe Balear (RVGB). Red de vigilancia de la gripe. Clínica diferencial entre pacientes con cultivo viral positivo y negativo. 3º Congreso Nacional de la Asociación Española de Vacunología (AEV). Madrid, Noviembre 2005. Comunicación Oral, p. 11–2.