

SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF RAPID DIAGNOSTIC TESTS AND IMMUNOFLUORESCENCE ASSAY FOR INFLUENZA

Rapid diagnostic tests (RDTs) and immunofluorescence assays (IFAs) are used in most Pacific Island countries and territories (PICTs) for laboratory testing for influenza. Rapid diagnosis of influenza allows the early initiation of infection control procedures and treatment with antiviral medication. RDTs are able to provide a result in less than an hour, while IFA requires two to four hours, specialised equipment, and trained and experienced technicians. A major reason for the use of RDTs and IFAs in PICTs is the cost and technical complexity of the more sensitive and specific methods, such as reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). In the Pacific, RT-PCR is not widely available and samples are referred to reference laboratories in Fiji, New Caledonia, New Zealand, Australia and Hawaii with a subsequent delay in the test result. The 2009 H1N1 pandemic highlighted concerns about the use of influenza RDT and IFA methods in PICTs.

Specifically, could these tests detect the influenza virus during the pandemic and what were the sensitivity and specificity parameters of these tests?

Babin et al. undertook a meta-analysis of 14 studies that examined the use of RDTs for the detection of pandemic H1N1 (2009).¹ The pooled sensitivity for the studies included in this review was 68%, with a range of 10%–88%. This means that more than three out of ten samples from people with influenza will, on average, test negative. This information is shown in Figures 1–4.

Research has consistently shown that the sensitivity of RDTs decreases as the amount of virus in the sample decreases. The practical implication is that to maximise the sensitivity of RDTs, samples must contain the maximum amount of virus (see sample collection key elements in the article on page 28).

RDTs are most useful in detecting influenza outbreaks where a group of patients with similar symptoms and exposure are tested. Finding at least a few positives suggests an outbreak, and this can initiate public health action. The use of RDTs in detecting an outbreak is shown in Figures 5 and 6.

Laboratory staff and clinicians in PICTs should be familiar with RDT and IFA test limitations and result interpretation. Treatment of hospitalised patients with an influenza-like illness should be commenced, regardless of the RDT or IFA result, and should not be delayed pending an RT-PCR result.

SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DES TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE DE LA GRIPPE ET DE L'IMMUNOFLUORESCENCE

Les tests de diagnostic rapide (TDR) et les épreuves d'immunofluorescence sont utilisés dans la plupart des États et Territoires insulaires océaniques pour détecter les antigènes viraux de la grippe en laboratoire. Le diagnostic rapide de la grippe permet de lancer les procédures de lutte anti-infectieuse et le traitement antiviral de manière précoce. Les TDR peuvent donner un résultat en moins d'une heure, tandis que le test d'immunofluorescence requiert deux à quatre heures, du matériel spécialisé et des techniciens formés et expérimentés. Si les États et Territoires insulaires océaniques recourent aux TDR et à l'immunofluorescence, c'est principalement en raison du coût et de la complexité technique d'autres méthodes plus sensibles et spécifiques, telles que la technique d'amplification génique (RT-PCR). En Océanie, le test par RT-PCR est difficile à mettre en place ; les échantillons doivent être envoyés aux laboratoires de référence des Fidji, de Nouvelle-Calédonie, de Nouvelle-Zélande, d'Australie et d'Hawaii, ce qui retarde les résultats. La grippe pandémique H1N1 (2009) a soulevé des inquiétudes quant à l'utilisation des tests de diagnostic rapide de la grippe et de la technique de l'immunofluorescence dans les États et Territoires insulaires océaniques.

Concrètement, ces tests ont-ils permis de détecter le virus de la grippe pendant la pandémie et quelle était leur performance, c'est-à-dire leur sensibilité et leur spécificité ?

Babin et al. ont entrepris une méta-analyse de 14 études portant sur l'utilisation des TDR pour la détection de la grippe pandémique H1N1 (2009)¹. Les études examinées dans le cadre de cette analyse ont donné une sensibilité globale de 68 %, avec une fourchette allant de 10 % à 88 %. En d'autres termes, en moyenne, sur dix échantillons provenant de patients atteints de grippe et soumis à des TDR, plus de trois se révèlent négatifs. Cette information est illustrée dans les figures 1 à 4.

Les études ont systématiquement montré que la sensibilité des TDR diminue lorsque les antigènes sont présents en faible quantité. Concrètement, cela signifie que pour augmenter autant que possible la sensibilité de ces tests, les échantillons doivent contenir une quantité maximum d'antigènes (voir les conditions essentielles pour le prélèvement d'échantillons exposées dans l'article page 28).

Les TDR sont particulièrement utiles pour détecter les flambées de grippe, lorsqu'un groupe de patients présentant les mêmes symptômes et un niveau d'exposition similaire sont soumis à des tests. Le fait qu'il y ait quelques cas positifs permet de penser qu'on assiste à une flambée de grippe et de lancer une action de santé publique. L'utilisation des TDR pour détecter une flambée épidémique est illustrée dans les figures 5 et 6.

Le personnel de laboratoire et les cliniciens des États et Territoires insulaires océaniques devraient bien connaître les limites des TDR et de la technique de l'immunofluorescence, ainsi que les éléments d'interprétation des résultats. Les patients hospitalisés qui présentent un syndrome grippal devraient quant à eux être traités, quel que soit le résultat du TDR ou du test d'immunofluorescence effectué, et sans attendre le résultat de la RT-PCR.

1 Babin S.M., Y. Hsieh, R. Rothman and C.A. Gaydos. 2011. A meta-analysis of point-of-care laboratory tests in the diagnosis of novel 2009 swine-lineage pandemic influenza A (H1N1). *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. 69: 410–418.

1 Babin S.M., Y. Hsieh, R. Rothman et C.A. Gaydos. 2011. A meta-analysis of point-of-care laboratory tests in the diagnosis of novel 2009 swine-lineage pandemic influenza A (H1N1). *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. 69: 410–418.



Sensitivity and specificity of tests for Influenza /
Sensibilité et spécificité des tests de détection de la grippe



What would happen if we tested 10 people we were sure had influenza? / Que se passe-t-il lorsqu'on pratique des tests sur 10 patients effectivement porteurs du virus de la grippe ?

Figure 1

Testing for Influenza by RT-PCR / Test de détection de la grippe par RT-PCR



The PCR would be positive for all cases. (or almost all cases). / La PCR serait positive pour tous les cas (ou presque).

Conclusions:
 ◊PCR has high sensitivity and gives very few false negative results. It can detect a positive even when very small amounts of virus are present. / Le test par PCR a une sensibilité élevée et donne très peu de résultats faux négatifs. Il permet de détecter des antigènes même lorsque ces derniers sont présents en très faible quantité.
 ◊PCR has a high specificity and gives very few false positive results. / Le test par PCR a une spécificité élevée et donne très peu de résultats faux positifs.

Figure 2

Testing for Influenza by RDT / Test de diagnostic rapide (TDR) de la grippe



Testing the same people by RDT, only about 4-7 of the results will be positive depending on the test kit and the samples. / Si l'on soumet ces mêmes patients à un TDR, seuls 4 à 7 d'entre eux sont diagnostiqués positifs, les résultats variant en fonction du test et des échantillons.

Conclusions:
 ◊RDT have a low sensitivity compared with PCR and will detect a real case in only about 4-7 times out of 10. / Le TDR a une faible sensibilité, par rapport à la PCR, et le virus grippal n'est réellement détecté que dans 4 à 7 cas sur 10.
 ◊RDT is not good when only small amounts of virus are present. / Le TDR n'est pas probant lorsque les antigènes sont présents en faible quantité.
 ◊RDT has a high specificity and gives few false positive results. / Le TDR a une spécificité élevée et donne peu de résultats faux positifs.

Figure 3

Testing for Influenza by IFA / Test de détection de la grippe par épreuve d'immunofluorescence



Testing the same people, by IFA, only about 5-8 of results will be positive depending on the technician skill and the samples. / Si l'on soumet ces mêmes patients à une épreuve d'immunofluorescence, seuls 5 à 8 d'entre eux seront diagnostiqués positifs, les résultats variant en fonction de l'expérience du technicien et des échantillons.

Conclusions:
 ◊IFA has a low sensitivity compared with PCR and will detect a real case in only about 5-8 times out of 10. / L'épreuve d'immunofluorescence a une faible sensibilité, par rapport à la PCR, et le virus grippal n'est réellement détecté que dans 5 à 8 cas sur 10.
 ◊IFA is not good when only small amounts of virus are present. / L'épreuve d'immunofluorescence n'est pas probante lorsque les antigènes sont présents en faible quantité.
 ◊Sometimes the slides are hard to read. / Parfois, la lecture des lames peut être difficile.

Figure 4

Using RDT to detect an influenza outbreak / Utilisation du TDR pour détecter une flambée de grippe

One person with influenza-like illness; fever, sore throat, cough. / Un patient souffre d'un syndrome grippal : fièvre, maux de gorge et toux.



Questions:
 ◊Is this a false negative? Maybe or maybe not. / S'agit-il d'un faux négatif ? Peut-être ou peut-être pas.
 ◊Is there an influenza outbreak? We don't really know. / Est-ce le début d'une flambée de grippe ? On ne le sait pas.

Figure 5

Using RDT to detect an influenza outbreak / Utilisation du TDR pour détecter une flambée de grippe

Six people with influenza-like illness; fever, sore throat, cough. / Six patients souffrent d'un syndrome grippal : fièvre, maux de gorge, toux.



Figure 6

Some positive and negative results. / Quelques résultats positifs et quelques résultats négatifs.

Conclusions:
 ◊Finding at least a few positives in people with similar symptoms suggests an influenza outbreak. / Le fait qu'il y ait quelques cas positifs parmi plusieurs cas présentant des symptômes similaires donne à penser qu'on assiste à une flambée de grippe.
 ◊It is possible that all six people have influenza and the negative results are false negatives. / Il est possible que les 6 patients aient la grippe et que les résultats négatifs soient des faux négatifs.

