



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SECRETARÍA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL

DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN

SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN MEDICINA INTERNA

**VALIDACIÓN DE PRUEBAS ALTERNAS EN EL DIAGNÓSTICO DE
INFLUENZA**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

PRESENTA

DRA. MARTHA ELENA RODEA RUBIO

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN

MEDICINA INTERNA

DIRECTORES DE TESIS:

DR. JOSÉ JUAN LOZANO NUEVO

DR. JUAN ANTONIO SUÁREZ CUENCA

DRA. MARÍA GUADALUPE FLORES ALCÁNTAR

MÉXICO, D.F.

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

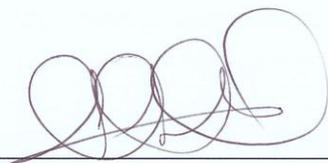
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

VALIDACIÓN DE PRUEBAS ALTERNAS EN EL DIAGNÓSTICO DE
INFLUENZA

DRA. MARTHA ELENA RODEA RUBIO

Vo. Bo.

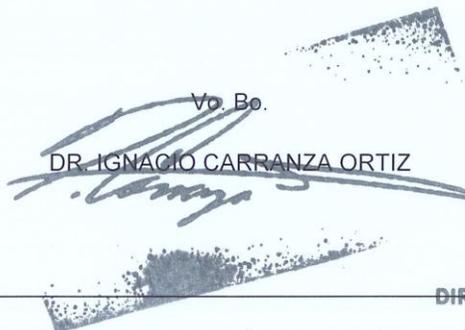
DR. JOSÉ JUAN LOZANO NUEVO



PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
EN MEDICINA INTERNA

Vo. Bo.

DR. IGNACIO CARRANZA ORTIZ



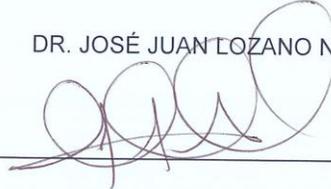
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE
SALUD DEL DISTRITO FEDERAL

VALIDACIÓN DE PRUEBAS ALTERNAS EN EL DIAGNÓSTICO DE
INFLUENZA

DRA. MARTHA ELENA RODEA RUBIO

Vo. Bo.

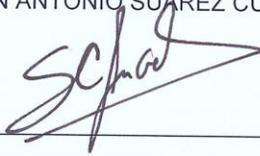
DR. JOSÉ JUAN LOZANO NUEVO



PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
EN MEDICINA INTERNA

Vo. Bo.

DR. JUAN ANTONIO SUÁREZ CUENCA



MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA
HOSPITAL GENERAL XOCO

Vo. Bo.

DRA. MARÍA GUADALUPE FLORES ALCÁNTAR



JEFA DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL GENERAL XOCO

PORTADA	
ÍNDICE	
Resumen	5
Abstract	6
Introducción	
Marco teórico	7
Planteamiento del problema	13
Pregunta de investigación	14
Justificación	14
Hipótesis	15
Objetivo	15
Material y Métodos	
Diseño del estudio	15
Universo de estudio	15
Criterios de inclusión	16
Criterios de exclusión	16
Criterios de eliminación	16
Definición de variables	17
Tipo de muestreo	18
Procedimientos	18
Análisis estadístico	18
Cálculo del Tamaño de muestra	19
Resultados	20
Discusión	23
Conclusión	24
Referencias bibliográficas	25
Anexos	
Cronograma de actividades	27
Hoja de recolección de datos	28

RESUMEN

Introducción. La infección por virus de la Influenza requiere mejores pruebas diagnósticas y más asequibles para beneficio en la identificación y tratamiento oportuno.

Objetivo. Comparar la capacidad diagnóstica de diferentes pruebas para influenza.

Metodología. Se analizaron 419 expedientes de pacientes con diagnóstico de Enfermedad tipo Influenza y neumonía aguda grave; que acudieron al Hospital General de Ticomán de 2009 a 2014. Se comparó el tiempo para conocer el resultado de cada prueba, así como la capacidad diagnóstica de la Prueba de Reacción en Cadena de polimerasa del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (PCR-INDRE), considerada como estándar de oro; la Prueba del Instituto Politécnico Nacional (PCR-IPN) y la Prueba Rápida Institucional (PrP-SSDF).

Resultados. Tiempo promedio para el reporte: PCR-INDRE, 10 días; PCR-IPN, 3 días y PrP-SSDF, inmediata. En relación al estándar de oro, la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para PCR-IPN vs PrP-SSDF fueron: 0.95 vs 0.43; 0.90 vs 0.90; 0.80 vs 0.87 y 0.98 vs 0.85, respectivamente.

Discusión. El reporte de PCR-IPN mostró comparativamente una disponibilidad temporal aceptable y una capacidad diagnóstica confiable en relación al estándar de oro. Aunque la PrP-SSDF tuvo una disponibilidad inmediata, mostró limitaciones en la sensibilidad diagnóstica y menor área bajo la curva en el análisis ROC, lo que favorece errores de interpretación.

Conclusiones. La comparación de PCR-IPN y PrP-SSDF mostró que la primera es una prueba diagnóstica de influenza más adecuada con disponibilidad en tiempo razonable. Se sugiere como una alternativa diagnóstica asequible y valiosa.

Palabras clave: Influenza, pruebas diagnósticas.

ABSTRACT

Introduction. Infection with influenza virus requires better and more affordable diagnostic tests which favor the identification and timely therapy.

Objective: To compare the diagnostic performance of different tests for influenza.

Methods: Four-hundred and nineteen records of patients attending in “Ticomán” General Hospital from 2009 to 2014, diagnosed with Influenza and severe acute pneumonia were analyzed. Time to get the results of each test was compared, as well as the diagnostic ability of polymerase chain reaction test from the National Institute of Epidemiological Diagnosis and Reference (PCR-INDRE), considered as the gold standard; the National Polytechnic Institute test (IPN-PCR) and the Institutional Rapid test (PrP-SSDF).

Results: Average time for reporting: PCR-INDRE, 10 days; PCR-IPN, 3 days and PrP-SSDF, immediately. Regarding the gold standard, the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value for PCR-IPN vs PrP-SSDF were: 0.95 vs 0.43; 0.90 vs 0.90; 0.80 vs 0.87 and 0.98 vs 0.85, respectively.

Discussion: Comparatively, the PCR-IPN report showed acceptable time availability and reliable diagnostic performance, according to gold standard. Although availability of PrP-SSDF report was immediate, it showed limitations such as diagnostic low sensitivity and reduced area under the curve at ROC analysis, favoring misinterpretation.

Conclusions: Comparison of PCR-IPN and PrP-SSDF showed that the former had the best diagnostic performance for influenza and the availability in time was reasonable. It is proposed as an affordable and valuable diagnostic choice.

Key Words: Influenza, Diagnostic Tests.

INTRODUCCIÓN

MARCO TEÓRICO

Desde el punto de vista de salud pública, el virus de Influenza A ha sido de gran importancia por su capacidad de infectar a humanos y algunas especies de animales. Cuando los virus de Influenza de una especie infectan a otra, éstos pueden reagruparse surgiendo nuevos subtipos.^{1,2}

En los últimos años, gracias al desarrollo de la biología molecular, la genómica, la bioinformática y otras disciplinas, se han generado instrumentos que permiten analizar bajo ópticas novedosas las características de agentes patógenos. Desde el comienzo de la epidemia, fue notable el observar que el grupo más afectado con neumonía severa fue el de los adultos, mientras que no se reportara lo mismo para los extremos de la edad (niños y ancianos), que tradicionalmente suelen ser los más afectados.³

Las proteínas de los virus identificados en diferentes partes del mundo son solamente 80% similares a las de las cepas identificadas en México. Estos cambios o mutaciones se acumulan en diferentes regiones de las proteínas incluyendo aquellas que están expuestas al reconocimiento por los anticuerpos específicos desarrollados por la vacuna y que brindan la protección. Esto implica que son suficientes dos aminoácidos diferentes por cada 10 para tener un elevado margen de certeza de que los anticuerpos inducidos por la vacunación no reconocerán, no se unirán y no inactivarán apropiadamente las partículas virales.^{1,4}

Al comparar las secuencias de las proteínas hemaglutinina , y neuraminidasa de los virus de las vacunas para la influenza estacional, con las de las proteínas homólogas de las cepas del virus A H1N1 que circularon, se estableció que las secuencias de este conjunto son tan parecidas entre sí, que no es posible establecer en detalle sus relaciones evolutivas. En el caso de las secuencias de HA los parientes más cercanos de este conjunto resultan ser las secuencias provenientes de virus porcinos de origen asiático. Sin embargo, el análisis de las secuencias de NA sugiere que los parientes más cercanos del conjunto que

incluye a las cepas mexicanas son los grupos de virus de cerdos europeos. Estos resultados apoyan la hipótesis de que el virus A H1N1 es resultado de varios eventos de recombinación.^{3,5}

Existe tratamiento antiviral: zanamivir y oseltamivir cuyo potencial terapéutico ha sido efectivo contra este agente, sin embargo en 2010 se estuvo alerta ante la aparición de casos resistentes relacionados básicamente al mecanismo de acción del oseltamivir, desconociéndose el algoritmo de aparición de nuevos casos. En la actualidad el 30% de los virus de muestras de pacientes del norte de Australia y más del 10% de Singapur, tienen sensibilidad reducida a estas drogas. Ello muestra la necesidad de mantener una vigilancia para detectar la aparición de cepas resistentes.^{6,7}

En 1918 la pandemia del virus de influenza A/H1N1 provocó la muerte de 40 millones de personas alrededor del mundo. Durante esa pandemia, los cerdos también morían de un síndrome similar al de la influenza humana. Más tarde fue demostrado que los anticuerpos antiinfluenza humana neutralizaban los antígenos respiratorios porcinos.⁸

El virus de influenza está conformado por 8 diferentes segmentos de RNA. Cada segmento codifica para una proteína diferente que es esencial para la estructura y función del virus. Hay tres géneros de virus de la influenza: A, B y C. La Influenza A por si sola causa enfermedad pandémica, mientras que la influenza B y C causan enfermedad de proporciones epidémicas únicamente. La influenza A es además subdividida por sus glicoproteínas de superficie: hemaglutinina y neuraminidasa. La hemaglutinina, por la que hay 16 diferentes moléculas, permite al virión anclarse a la superficie celular, mientras que la neuroaminidasa, por la que hay 9 moléculas, que permiten la digestión de las secreciones del hospedero y más tarde liberan las partículas virales de las células del hospedero. El virus de influenza se nombra a partir de las moléculas de hemaglutinina y neuroaminidasa que presenta.⁹

Debido a que el virión de la influenza está hecho de 8 hebras independientes de RNA está sujeto a cambios genéticos. Los dos tipos de cambios genéticos que han sido mejor descritos son: cambio antigénico, deriva antigénica y redistribución

genética. La redistribución sucede cuando dos virus infectan la misma célula hospedera y después intercambian genes durante la replicación. Este proceso resulta en un nuevo virión que tiene segmentos de genes de cada uno de los virus. Este cambio ocurre de virus específicos de una especie y puede también resultar en un nuevo virus originado de interespecies. El virus H1N1 que causó la pandemia de 1918 se derivó de genes (o segmentos de RNA) de influenza humana, influenza porcina e influenza aviar. El virus de influenza también puede sufrir cambios pequeños. Los segmentos de RNA mutan de tal manera que la hemaglutinina y la neuroaminidasa no cambian su tipo, sólo un poco su estructura. En otras palabras, conservan el mismo nombre (H1, H2) pero pueden ser no reconocidas por sistema inmune del hospedero como el mismo virus. Este proceso se llama deriva antigénica.^{6,10}

Cualquier cambio en el virus de la influenza, sean pequeños cambios de la composición de la molécula de hemaglutinina o un gran cambio con el reordenamiento interespecies, reducirá las posibilidades del hospedero de tener una respuesta inmune efectiva. Adicionalmente, la diversidad de la composición del RNA de los virus de influenza año con año vuelve el desarrollo de vacunas más difícil porque se vuelve más difícil predecir que virus de influenza circulará.^{11,12}

El genoma viral es de RNA de cadena sencilla, de sentido negativo; los virus de influenza tipos A y B poseen 8 segmentos de RNA, los tipo C 7. Cada segmento de RNA está asociado a varias nucleoproteínas que impiden la formación de estructuras secundarias, y a una RNA polimerasa, por sus extremos 5' y 3'. Cada segmento codifica para un polipéptido, con excepción de los segmentos denominados M y NS. La infección viral se inicia con el enlace de la HA a un receptor de membrana que contienen residuos terminales de ácido neuramínico. El virus se internaliza en un endosoma y posteriormente las ribonucleoproteínas se liberan en el citoplasma. Subsecuentemente, éstas pasan por los poros nucleares al núcleo para la transcripción (síntesis de RNA mensajero viral) y la replicación que son mediadas por la RNA polimerasa viral. La síntesis de las

proteínas virales la lleva a cabo la célula. Los componentes proteicos necesarios para la formación de las ribonucleoproteínas y la nucleocápside se exportan al núcleo celular. Las proteínas virales de la envoltura se transportan y modifican en el aparato de Golgi para finalmente ser insertadas en la membrana celular. El ensamblaje final de la partícula viral es un proceso no bien comprendido. La liberación de la partícula viral produce lisis celular.^{6,10,13}

La influenza se transmite de persona a persona mediante gotitas de saliva producidas al toser o estornudar, las cuales al ser inhaladas depositan un inóculo infeccioso en el epitelio de las vías respiratorias, o bien por contacto con manos o superficies contaminadas. Se considera como periodo de incubación desde la exposición hasta el inicio de la enfermedad y varía de 1 a 4 días dependiendo de la magnitud de la dosis viral del inóculo y el estado inmune del hospedero. El periodo infeccioso se debe a la diseminación del virus y comienza un día antes de la aparición de los síntomas, llega al máximo en 24 horas, se mantiene durante 1 ó 2 días y declina con rapidez.¹⁴

Una vez que los virus se han implantado en el epitelio de las vías respiratorias comienzan a replicarse y diseminarse en el tracto respiratorio, causando la descamación de las células ciliadas y de las células secretoras de moco. La multiplicación viral lleva a la lisis de estas células con la liberación de antígenos virales que atraen a macrófagos y a linfocitos. La liberación de mediadores humorales de inflamación como la interleucina-1 por los macrófagos da como resultado fiebre. Es probable que el interferón cause dolores musculares difusos y fatiga, los mediadores de la inflamación producen vasodilatación y edema en la nariz, lo que provoca obstrucción y rinorrea; la irritación provocada por los restos virales y celulares estimula la producción de moco. El daño ocasionado por la lisis de células del epitelio respiratorio favorece la colonización de bacterias tales como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* que pueden producir neumonía.¹⁵

La enfermedad tiene un inicio súbito, fiebre mayor de 38°C, postración, cefalea, mialgias, tos seca y manifestaciones nasales como estornudos, rinorrea y obstrucción aérea, con inflamación faríngea. La fiebre declina al segundo o tercer día de la enfermedad, al ceder la fiebre los síntomas respiratorios pueden exacerbarse, la tos y la rinorrea pueden ser más intensos. Cuando se resuelven la mayoría de los síntomas, la tos y la debilidad pueden persistir hasta una semana más. Las complicaciones que se pueden observar son neumonía bacteriana secundaria, neumonía viral primaria y neumonía mixta, viral y bacteriana. Las complicaciones extrapulmonares incluyen el síndrome de Reyé, miositis, encefalitis y manifestaciones neurológicas inespecíficas. Las formas severas de la enfermedad son causadas por los tipos A y B, mientras que el tipo C causa infecciones subclínicas durante la infancia.¹³

Además del ser humano, el virus de la influenza tipo A se puede encontrar en ballenas, cerdos, caballos, aves silvestres y aves de corral. Existe la posibilidad del contacto entre estas especies, y gracias a la capacidad que tienen los virus de influenza para combinarse entre ellos, se puede obtener una variedad antigénica diferente. Los virus de influenza tipo B y C sólo se presentan en seres humanos.^{7,15}

El diagnóstico presuntivo de influenza se establece con base en signos y síntomas. El diagnóstico definitivo requiere de la demostración de antígenos virales por métodos inmunológicos. La presencia de anticuerpos específicos sólo tiene valor diagnóstico si el título de anticuerpos es 4 veces mayor al título basal obtenido en muestras de individuos sanos con la misma técnica y en el mismo laboratorio. Las muestras biológicas requeridas para el diagnóstico pueden ser: exudado faríngeo, nasofaríngeo, gargarismo, lavado broncoalveolar o suero. La muestra debe tomarse en las primeras 72 horas de iniciado el padecimiento y mantenerse a 4°C. El diagnóstico puede requerir también el aislamiento del virus por cultivo en líneas celulares o en embrión de pollo. Las técnicas utilizadas para la identificación son la inmunofluorescencia indirecta o directa y la inhibición de la

hemaglutinación. La demostración de la presencia de ácidos nucleicos virales por la técnica de RT-PCR es un método muy rápido y sensible para el diagnóstico.^{2,14}

Actualmente el tratamiento incluye drogas antivirales, como la rimantadina, la amantadina y la ribavirina que son muy eficaces, ya que reducen la intensidad de los síntomas, si son administradas dentro de las primeras 48 horas de iniciada la infección. Estas drogas se usan en casos de influenza severa ya que presentan algunos efectos secundarios indeseados. Para contrarrestar las molestias de la influenza existen diversos medicamentos paliativos como el ibuprofeno para el dolor muscular, el acetaminofén para la fiebre y la aspirina que mejora el estado general de los pacientes.^{4,5}

En el siglo XX se presentaron varias pandemias de influenza, las más importantes fueron la influenza española (1918-1919), la influenza asiática (1957-1958) y la influenza de Hong Kong (1968-1969). Cabe mencionar que la pandemia de 1918, que se presentó al final de la primera guerra mundial, ocasionó más muertes que la guerra misma (más de 20 millones). Sin embargo, no fue sino 15 años después cuando se logró el primer aislamiento de virus de influenza tipo A, en 1936 el del tipo B y hasta 1950 el aislamiento del tipo C. La influenza es importante sobre todo en los grupos de alto riesgo, que incluye a niños, personas mayores de 65 años o con enfermedades inmunes y/o metabólicas. En estos grupos se observa la mayor tasa de mortalidad. Sin embargo, esto no quiere decir que el resto de la población esté exenta de sufrir la enfermedad, la mayor morbilidad se presenta en adolescentes y adultos jóvenes. La influenza está relacionada con el invierno, en el hemisferio norte se presenta de noviembre a abril y en el hemisferio sur de mayo a octubre. En áreas tropicales puede haber un patrón bimodal o bien no presentar estacionalidad.¹⁰

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde el punto de vista de salud pública, el virus de Influenza A ha sido de gran importancia por su capacidad de infectar a humanos y algunas especies de animales.¹

A nivel mundial se ha estimado que existen 600 millones de casos de influenza A, que ocasionan entre 250,000 a 500,000 muertes en población general. La influenza afecta a todos los grupos de edad y rápidamente incrementa los casos a dimensiones epidemiológicamente considerables. Por lo que la sospecha diagnóstica de infección por virus de Influenza justifica el escrutinio temprano para iniciar medidas terapéuticas de forma oportuna.^{2,3}

Las complicaciones más graves de la infección por virus de Influenza se observan a nivel pulmonar. Por lo general, la infección afecta a pacientes mayores de 45 años, con alguna cardiopatía de base y cursa con síntomas clásicos de fiebre, tos no productiva y mialgias. Al examen físico se pueden encontrar estertores y sibilancias, aunado a una imagen radiológica de infiltrados difusos en el parénquima pulmonar que simulan congestión venocapilar. A nivel histopatológico se observa bronquitis necrotizante, membranas hialinas, hemorragia intraalveolar, edema e inflamación intersticial. Los estudios de laboratorio suelen ser inespecíficos, con presencia de leucocitosis y velocidad de sedimentación globular normal, mientras que los estudios bacteriológicos se reportan como negativos.^{4, 7}

Por esta razón, se requiere de métodos de identificación diagnóstica que sean más oportunos, confiables y asequibles, dado que la mortalidad puede alcanzar hasta 80% y la frecuencia de admisión hospitalaria por neumonía por Influenza alcanza hasta 18%, con un incremento en fecha reciente en nuestro país.²

Actualmente, el diagnóstico definitivo se logra mediante aislamiento del virus en cultivo celular; sin embargo, esta técnica presenta limitaciones de complejidad técnica y el tiempo para obtener el resultado. La Prueba de Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR) ha mostrado una capacidad diagnóstica comparable al

cultivo viral; con la desventaja de su escasa accesibilidad, limitación costo-económica, de disponibilidad y tiempo, por lo que han surgido otras técnicas basadas en inmunoensayos. En el Instituto Politécnico Nacional se ha desarrollado una prueba diagnóstica basada en PCR a punto final (PCR-IPN) que supone una confiabilidad diagnóstica similar a la prueba de PCR en tiempo-real, utilizada en el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (PCR-INDRE). Por otro lado, también se ha utilizado la llamada prueba rápida de Influenza, disponible en la Secretaría de Salud del DF, y que se trata de un inmunoensayo básico basado en cromatografía con revelado de anticuerpos (PrP-SSDF). Dada la variabilidad potencial en el desempeño diagnóstico de estas pruebas, aún no caracterizadas en un análisis comparativo, el presente estudio pretende evaluar la capacidad diagnóstica de la PCR-IPN vs PrP-SSDF, en relación a la prueba de PCR-INDRE, considerada como estándar de oro para motivos de este estudio.⁵

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Las pruebas alternas para diagnóstico de Influenza tienen la misma sensibilidad y especificidad que la procesada en el INDRE?

JUSTIFICACIÓN

La influenza es una enfermedad respiratoria con alto riesgo de complicaciones, con impacto en mortalidad, establecer un diagnóstico de certeza en forma oportuna permite iniciar un tratamiento eficaz, permitiendo dirigir estrategias en la prevención de complicaciones. Tener de forma temprana pruebas diagnósticas con alta sensibilidad y especificidad puede mejorar las medidas de tratamiento de forma eficiente.

HIPÓTESIS

Hipótesis Alternativa

Las pruebas alternas para diagnóstico de Influenza tienen la misma sensibilidad y especificidad que la procesada en el INDRE.

Hipótesis Nula

Las pruebas alternas para diagnóstico de Influenza no tienen la misma sensibilidad y especificidad que la procesada en el INDRE.

OBJETIVO

Determinar la sensibilidad, especificidad y los valores predictivos de las pruebas diagnósticas para Influenza en el Hospital General Ticomán.

MATERIALY MÉTODOS

Diseño de estudio

Se diseñó un estudio transversal analítico, observacional de evaluación de pruebas diagnósticas en comparación con la prueba de PCR-INDRE, considerada como estándar de oro en este estudio.

Universo de estudio

Se incluyó a hombres y mujeres, mayores de 18 años con diagnóstico de Neumonía Aguda con sospecha de infección por virus de Influenza en base a las características. La población de estudio fue atendida en el Hospital General Ticomán durante los años de 2009 a 2014.

Criterios de inclusión

- Pacientes con diagnóstico de IRA, ETI, Pb Influenza, IRA grave.
- Con prueba diagnóstica confirmatoria (INDRE)
- Con resultado de prueba diagnóstica alterna (Rápida y procesada en IPN)

Criterios de exclusión

- Pacientes con prueba confirmatoria (INDRE) sin resultado de prueba diagnóstica alterna (Rápida y procesada en IPN).
- Pacientes con prueba diagnóstica alterna (Rápida o procesada en IPN) sin resultado de prueba confirmatoria (INDRE).

Criterios de eliminación

- Pacientes con resultados pendientes.
- Pacientes con muestras rechazadas.

Definición de variables

NOMBRE DE LA VARIABLE	FUENTE	DEFINICIÓN		ESCALA DE MEDICIÓN	CALIFICACIÓN
		Conceptual	Operativa		
PCR-INDRE	Expectoración	Reacción en cadena de polimerasa del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (Estándar de oro)	La misma	Cualitativa dicotómica	<ul style="list-style-type: none"> • POSITIVA • NEGATIVA
PCR-IPN	Expectoración	Reacción en cadena de polimerasa del Instituto Politécnico Nacional	La misma	Cualitativa dicotómica	<ul style="list-style-type: none"> • POSITIVA • NEGATIVA
PrP-SSDF	Expectoración	Prueba rápida institucional	La misma	Cualitativa dicotómica	<ul style="list-style-type: none"> • POSITIVA • NEGATIVA

Tipo de muestreo

En función del universo para la obtención de la muestra y para satisfacer las características requeridas para el ingreso al estudio, se realizó un muestreo no probabilístico del tipo serie de casos consecutivos.

Procedimientos

Se captaron pacientes que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión de la consulta externa o del área de hospitalización del servicio de Medicina Interna del Hospital General de Ticomán.

Se les planteó el ingreso al estudio explicándoles los procedimientos a realizar.

Una vez que aceptaron participar en el estudio se les entregó el consentimiento informado (basado en la declaración de Helsinki y en la Ley General de Salud) para que lo pudieran leer y les quedara claro su participación, para que posteriormente pudieran tomar la decisión de aceptar por escrito o no su participación.

Se obtuvo información clínico-demográfica se obtuvo del expediente clínico.

Las pruebas de PCR-INDRE (PCR en tiempo real), PCR-IPN (PCR punto final) y PrR-SSDF se realizaron en la misma muestra de exudado faríngeo, de acuerdo a técnicas estándar.

Análisis Estadístico

Se empleó estadística descriptiva para los datos clínico-demográficos de la población de estudio.

Se determinaron las siguientes pruebas diagnósticas sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo, negativo y curvas ROC.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 20.

Cálculo del tamaño de la muestra

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2})^2 \cdot p(1-p)}{d^2}$$

donde:

n = tamaño de muestra.

$Z_{\alpha/2}$ = valor Z del error alfa con una confianza de 95%, asignando a alfa = 0.05

p = prevalencia poblacional esperada para el evento en estudio (de acuerdo a reportes previos).

d = diferencia entre el valor de prevalencia poblacional esperada y el error aceptable.

En México, en 20% de los pacientes hospitalizados por neumonía en un hospital especializado en enfermedades respiratorias se confirmó la existencia del nuevo virus. (Perez-Padilla R, N Engl J Med 2009;361:680). La diferencia entre el valor esperado de prevalencia y el error aceptable es 20%.

$$n = \frac{(1.96)^2 \cdot (0.20 \cdot (1-0.20))}{(0.20)^2} = \frac{0.614}{0.0225} = 28$$

RESULTADOS

Se evaluaron 419 expedientes de los cuales se descartaron 351 expedientes por información incompleta. Finalmente se consideró para el análisis la información de 68 casos. Las características demográficas de los pacientes se describen en el Cuadro 1. El 81.9% de la población estudiada se encontraba entre los 18 y 37 años de edad y el 54.4% de la población fueron hombres.

Cuadro 1. Características clínico-demográficas de la población

Variables	Determinación
Edad	30.7 ± 9.71
Sexo masculino (n[%])	37 (54.4)
Obesidad (n[%])	7 (10.2)
Diabetes Mellitus (n[%])	5 (7.3)
Hipertensión Arterial (n[%])	4 (5.8)
Tabaquismo (n[%])	6 (8.8)
Asma (n[%])	4 (5.8)
EPOC (n[%])	2 (2.9)
Síntoma inicial (n[%])	
• Fiebre	53 (77.9)
• Tos	14 (20.5)
• Disnea	1 (1.4)
Tiempo para el reporte de la prueba (min)	4.25 ± 1.06
• Prueba rápida	4320 ± 1.12
• Prueba IPN	14400 ± 1.05
• Prueba INDRE	

Las variables cuantitativas se expresaron mediante media ± desviación estándar. Las variables cualitativas mediante número y porcentaje.

Respecto al tiempo promedio de obtención del reporte, el PrP-SSDF mostró una disponibilidad inmediata mientras que el resultado de PCR-IPN y PCR-INDRE se recibió en lapsos de 3 y 10 días, respectivamente.

Los determinantes de capacidad diagnóstica de las pruebas PrP-SSDF y PCR-IPN se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Comparación de pruebas diagnósticas

Variable	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	IC 95%		AUROC (p)
PrP-SSDF	0.43	0.90	0.87	0.85	0.15	0.45	0.0130
PCR-IPN	0.95	0.90	0.80	0.98	0.83	0.99	0.0001

PrP-SSDF, prueba rápida institucional; .PCR-IPN, Prueba de Reacción en Cadena de polimerasa del Instituto Politécnico Nacional; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; IC 95%, intervalo de confianza 95%; AUROC Área bajo de curva de Característica Operativa del Observador.

Con la información antes descrita y diferentes puntos de corte de sensibilidad y especificidad se construyeron curvas ROC para comparación, como se muestra en la Figura 1.

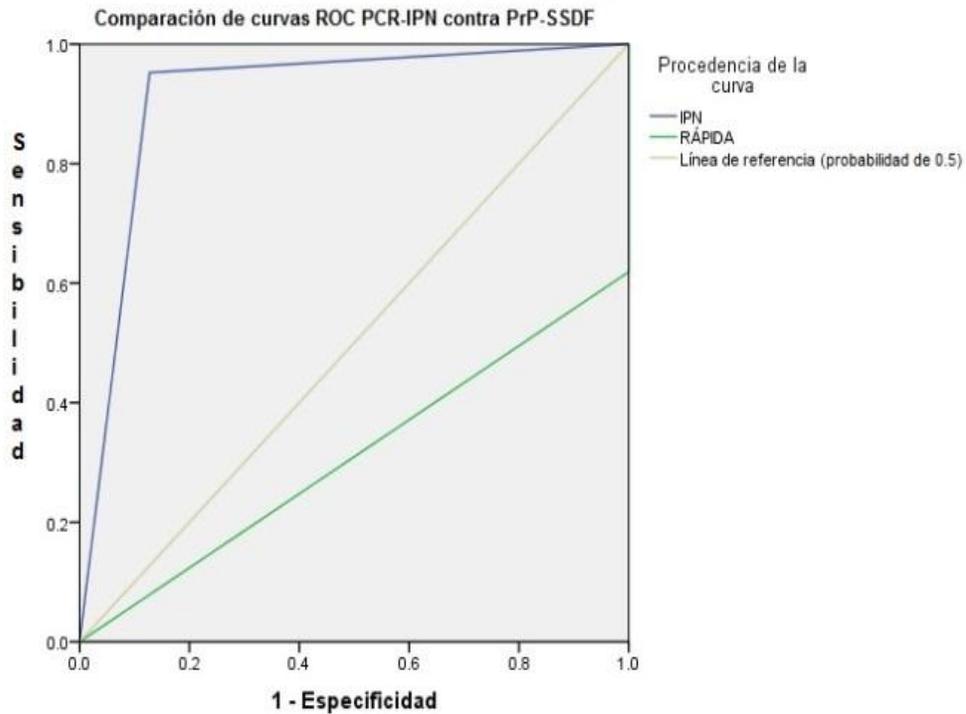


Figura 1. Curvas ROC. Se muestra la curva ROC correspondiente a PCR-IPN (morado) y a PrP-SSDF (verde).

Se obtuvo el área bajo la curva ROC (AUROC) para la PCR-IPN 0.92 ± 0.04 (IC95%= 0.84 – 0.99; $p=0.0001$); PrP-SSDF 0.31 ± 0.07 (IC95%= 0.15 – 0.46; $p=0.013$). Al comparar ambas AUROC se observa una diferencia estadísticamente significativa ($p<0.000001$).

DISCUSIÓN

El virus de la Influenza A se asocia con complicaciones respiratorias severas que pueden llevar a un desenlace fatal, y donde la identificación temprana y el tratamiento oportuno pueden ser cruciales.

Por lo anterior, contar con una prueba con una capacidad diagnóstica adecuada permite al clínico tomar mejor decisiones, reduciendo así complicaciones de la enfermedad y evitando el uso indiscriminado de antibióticos.

De acuerdo con estadísticas oficiales, las infecciones respiratorias son de las principales causas de morbilidad entre la población mexicana ². Sin embargo, las técnicas con las que contamos para el diagnóstico de virus respiratorios difieren en el tiempo de obtención. Por ejemplo, este estudio mostró que la prueba PrP-SSDF tuvo disponibilidad inmediata en comparación con las demás pruebas; sin embargo, esta ventaja debe tomarse con reserva dada la variabilidad de capacidad diagnóstica encontrada posteriormente.

En este sentido, si se considera el resultado de la prueba de PCR-INDRE como el estándar de oro, la prueba PCR-IPN obtuvo la mejor sensibilidad y especificidad (0.95 y 0.98 respectivamente); mientras que sus valores predictivos comprobaron su alta eficacia en el diagnóstico de Influenza. Al comparar las AUROC de la PCR-IPN vs PrP-SSDF, se encontró un desempeño diagnóstico hasta tres veces mejor a favor del PCR-IPN.

Dicho de otro modo, el uso de la PrP-SSDF podría subdiagnosticar los casos, ya que hasta dos tercios de pacientes identificados con la prueba PCR-IPN no fueron detectados por la prueba PrP-SSDF. Esto sugiere que la interpretación de esta prueba PrP-SSDF debe tomarse con reserva, y darle más valor a un resultado positivo.

CONCLUSIÓN

En base a los resultados de este estudio, la prueba de PCR-IPN tiene un desempeño diagnóstico más adecuado que la PrP-SSDF, con tiempo de disponibilidad de resultados no inmediato, pero razonable.

La prueba de PCR-IPN se sugiere como una alternativa diagnóstica asequible y valiosa.

La comparación de PCR-IPN y PrP-SSDF mostró que la primera es una prueba diagnóstica de influenza más adecuada con disponibilidad en tiempo razonable. Se sugiere como una alternativa diagnóstica asequible y valiosa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Noyola DE, Clark B, O'Donnell FT, Atmar RL, Greer J, Demmler GJ. Comparison of a New Neuraminidase Detection Assay with an Enzyme Immunoassay, Immunofluorescence, and Culture for Rapid Detection of Influenza A and B Viruses in Nasal Wash Specimens. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1161-1165.
2. Secretaría de Salud (SSA). Plan Nacional de Preparación y Respuesta ante una Pandemia de Influenza. México 2006.
3. Miller MA, Viboud C, Balinska M, Simons en L. The signature features of influenza pandemics – Implications for policy. *N Engl J Med* 2009; 360:2595.
4. Tothberg MB, Haessler SD, Brown RB. Complications of Viral Influenza. *Am J Med.* 2008; 121(4):258-64.
5. Fouchier RAM, Bestebroer TM, Herfst S, Van Der Kemp L, Rimmelzwaan GF, Osterhaus ADME. Detection of Influenza A Viruses from Different Species by PCR Amplification of Conserved Sequences in the Matrix Gene. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4096-4101.
6. Ramón Zazueta-García, et al. Effectiveness of two rapid influenza tests in comparison to reverse transcription-PCR for influenza A diagnosis *J Infect Dev Ctries* 2014; 8(3):331-338.
7. Chowell G, Bertozzi SM, Colchero A, López-Gatell H, Alpuche-Aranda C, Hernández M et al. Severe respiratory disease concurrent with the circulation of H1N1 influenza. *N Engl J Med* 2009; 369:674.
8. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 2009; 360 (25):2605.
- 9 .Pérez-Padilla R, De la Rosa-Zamboni D, Ponce de León S, Hernández M, Quiñones-Falconi F, Bautista E et al. Pneumonia and respiratory failure from swine origin influenza A (H1N1) in Mexico. *N Engl J Med* 2009; 361:680.
10. Garske T. Assessing the severity of a novel influenza A/H1N1 pandemic. *BMJ* 2009; 339: b2840.

11. Landry ML, Ferguson D. SimulFluor Respiratory Screen for Rapid Detection of Multiple Respiratory Viruses in Clinical Specimens by Immunofluorescence Staining. *J Clin Microbiol* 200; 38: 708-711.
12. Leland DS, Ginocchio CC .Role of Cell Culture for Virus Detection in the Age of Technology. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 49-78.
13. Fouchier RAM, Belshe RD. Implications of the emergence of a novel H1 influenza virus. *N Engl J Med* 2009; 360(6):2667-2668.
14. Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA*. 2003; 289:17.
15. Hak E, Wei F, Nordin J, et al. Development and validation of a clinical prediction rule for hospitalization due to pneumonia or influenza or death during influenza epidemics among community-dwelling elderly persons. *J Infect Dis*. 2004;189: 450-458.9-186.

ANEXOS

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	1er año	2do año	3er año	4to año
Elaboración de protocolo, obtención de insumos	X			
Inicio del reclutamiento de pacientes		X		
Procesamiento de las muestras		X	X	
Análisis estadístico de los datos			X	X
Redacción del artículo y envío a publicación				X

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

HOSPITAL GENERAL TICOMÁN

FECHA _____

NOMBRE _____

EDAD _____

GÉNERO _____

CAMA _____

EXPEDIENTE _____

TA		FC		FR		TEMP.		Peso		Talla		IMC	
----	--	----	--	----	--	-------	--	------	--	-------	--	-----	--

ANTECEDENTES DE IMPORTANCIA

PrP-SSDF	PCR-IPN	PCR-INDRE

RECOLECTO: Dra. Martha Elena Rodea Rubio RMI _____