



**Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri
Instituto Nacional de Salud, El Salvador**

Título: “Evaluación del desempeño de la prueba de inmunofluorescencia indirecta y de variables predictoras de positividad para la vigilancia de influenza en el Laboratorio Nacional de Referencia, El Salvador. 2015 –2017”

AUTOR:

Lic. Abel Antonio Godoy Rodríguez

TUTORES:

Dr. Rafael Llanes Caballero. MSc.

Lic. Odalys Valdés Ramírez. DrC.

ASESOR:

Dra. Susana Borroto Gutiérrez. DrC.

Tesis para optar al Título de Máster en Epidemiología

SAN SALVADOR

2019

Agradecimientos

Agradezco a Dios por haberme dado la oportunidad de poder culminar mi estudio de maestría y haber puesto los instrumentos necesarios para alcanzar esta meta en mi formación como profesional.

Al Instituto Pedro Kouri, al Instituto Nacional de Salud del MINSAL y Medicusmundi por la oportunidad de formarme como epidemiólogo en tan respetable y renombrada institución. A los profesores de la maestría, quienes nos enseñaron con su experiencia en sus áreas de experticia, y quienes, con mucha paciencia, calidad, capacidad pedagógica y fraternidad nos han llevado a culminar este proceso educativo.

A mis tutores, Dr. Rafael Llanes Caballero y Lic. Odalys Valdés Ramírez, a mi asesora Dra Susana Borroto, quien me ha guiado en la formulación y elaboración de este trabajo de investigación.

A mis compañeros con quienes compartimos horas valiosas de aprendizaje y experiencias laborales fortaleciendo cada uno de los contenidos de los módulos cursados durante la maestría.

RESUMEN

Antecedentes: En El Salvador no existen estudios sobre el rendimiento de la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) ni la relación entre positividad a virus influenza con el diagnóstico clínico. **Objetivos:** Evaluar la IFI para la vigilancia de influenza en el Laboratorio Nacional de Referencia y relacionar la positividad de las pruebas con el cuadro clínico, las características sociodemográficas y día de toma de muestras (DTM). **Metodología:** Estudio transversal de evaluación de una prueba diagnóstica, con datos del sistema de vigilancia epidemiológica de 2015-2017. Se evaluó la IFI en 1048 pacientes con la prueba de reacción en cadena de la polimerasa como referencia, según DTM. Se realizó regresión logística por cada evento vigilado; se identificaron síntomas y signos, variables socioeconómicas y DTM respiratoria, que pudieran predecir un resultado positivo de influenza. **Resultados:** Para las muestras tomadas 1-5 días del inicio de síntomas, la IFI mostró sensibilidad, especificidad y concordancia de 87,4%, 97,1% y 0,86, respectivamente. Para las muestras tomadas de 6-10 días, los valores de sensibilidad, especificidad y concordancia fueron de 44,2%, 100% y 0,56. Los predictores para Enfermedad Tipo Influenza fueron: edad 6–24 años (OR=1,843), fiebre (OR=3,373) y tos (OR=4,960). Para Infección Respiratoria Aguda Grave (IRAG) resultaron: edad 25-49 años (OR=2,509), 50-64 años (OR=2,879), ≥65 años (OR=2,143), fiebre (OR=1,736) y dolor de garganta (OR=1,601). Para IRAG inusitada fueron: fiebre (OR=2,507) y dolor de garganta (2,459). **Conclusiones:** La realización de IFI en los primeros 5 días del inicio de los síntomas, limita la detección de virus influenza. La fiebre y la tos fueron los principales predictores de Influenza.

Palabras clave: Virus Influenza, IFI, RT-PCR en tiempo real, sensibilidad, especificidad, predictores clínicos ..

Índice

INTRODUCCIÓN.....	1
Planteamiento del problema	3
Justificación	5
Preguntas de investigación	6
OBJETIVOS:	7
MARCO TEÓRICO.....	8
Influenza estacional.....	9
Vigilancia de influenza	10
Enfermedad tipo influenza (ETI)	12
Infección respiratoria aguda grave (IRAG).....	12
Infección respiratoria aguda grave inusitada (IRAGI).....	13
Virus influenza.....	13
Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de influenza	13
METODOLOGÍA.....	16
Diseño de estudio.....	16
Sitios de estudio	16
Población de estudio.....	17
Tamaño de la muestra.....	17
Criterios de exclusión.....	18
Operacionalización de variables	19
Procedimiento para la recolección de datos	20
Control de calidad de los resultados y base de datos	22
Análisis de datos.....	23
Control de sesgos.....	26
Consideraciones éticas	27
RESULTADOS.....	28
DISCUSION.....	42
RECOMENDACIONES.....	48
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	49

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias agudas (IRA) se ubican entre las diez principales causas de defunción en la población general, afectan con elevada frecuencia a personas mayores de 65 años y están entre las tres primeras causas de muerte en los niños menores de 5 años. La carga de morbilidad en hospitalizados por IRA asociada a influenza en los niños pequeños también es considerable, por lo que constituye un problema de salud pública (1-3).

La Influenza es una enfermedad común de origen vírico, de tipo respiratorio, aguda y muy contagiosa. La infección se trasmite de persona a persona, principalmente por medio de aerosoles que contienen virus y que se generan por la tos o el estornudo de individuos enfermos. Los virus influenza evolucionan de forma constante por acumulación de mutaciones puntuales en cada uno de sus ocho segmentos de ARN, lo que da lugar a la aparición de nuevas variantes antigénicas de manera regular, que pueden causar epidemias de impacto global. La aparición de nuevos virus que se transmiten de especies animales domésticas a humanos, y para los cuales no existe inmunidad, también pueden originar pandemias con resultados catastróficos. El análisis de las características de los virus influenza y de la enfermedad que produce es fundamental para definir estrategias adecuadas para su prevención y control, ya que por sus características de distribución y variación genética la Influenza no representa una enfermedad erradicable (4, 5).

La Influenza es una enfermedad generalmente leve o moderada, pero puede ser grave y hasta mortal en los individuos menores de dos años y en los mayores de 65 años, embarazadas, obesos mórbidos, inmunocomprometidos, pacientes con enfermedades metabólicas u otras enfermedades crónicas (6). Las manifestaciones clínicas varían según la edad de los pacientes. Los adultos y los adolescentes presentan el cuadro clásico de inicio brusco, con fiebre alta (38 - 40°C) que dura alrededor de cuatro días, acompañado de mialgias, cefalea, escalofríos, decaimiento, malestar general y fotofobia. Posterior al inicio de la fiebre, aparece obstrucción nasal, tos no productiva, disfagia, faringitis y rinitis. Los niños pequeños, en cambio, no hacen el cuadro típico; presentan fiebre alta

(generalmente $>39,5^{\circ}\text{C}$), con grados variables de compromiso del estado general, rinitis, cefalea y odinofagia. Los menores de 5 años presentan en particular anorexia y síntomas gastrointestinales como vómitos y diarreas. En los recién nacidos, el cuadro clínico es muy inespecífico, con fiebre alta, letargia, rechazo alimentario, piel moteada y apnea (7).

Debido a los continuos cambios en la estructura de los virus influenza, los individuos pueden enfermar varias veces en su vida. Por ello, y por la escasa duración de la protección, las vacunas que se producen deben ser anuales y adecuadas a los subtipos circulantes. De los tres tipos de virus influenza existentes (A, B y C), los dos primeros son los de mayor importancia epidemiológica. Los subtipos A(H1N1) y (H3N2) y los subtipos B linaje Victoria y Yamagata son los que circulan en la actualidad, con diferente incidencia según las regiones geográficas (6). En los países con climas templados, la Influenza tiene un comportamiento estacional, por lo que afecta a los individuos principalmente durante los meses de invierno (8).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) dispone de un sistema global de vigilancia de virus influenza que le permite identificar las variantes antigénicas y virus con potencial pandémico. Este sistema cuenta con una red internacional de médicos que informan a lo largo del año sobre el desarrollo de padecimientos respiratorios compatibles con la Influenza y envían muestras a laboratorios y centros internacionales dedicados a identificar y caracterizar los virus. La información se concentra en el Centro de Vigilancia de Enfermedades de la OMS, localizado en el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de Atlanta, EE.UU. Después de analizar los informes anuales, un grupo de expertos de la OMS recomienda las cepas virales que deben incluirse en la elaboración de la vacuna para la siguiente temporada invernal en los hemisferios norte y sur (9).

En el año 2009, la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América (IDSA por sus siglas en inglés) publicó las Guías para el diagnóstico, tratamiento y quimiopprofilaxis de la Influenza estacional. En base a la resistencia antiviral presente en marzo de ese año, se sugirió el tratamiento con zanamivir u

oseltamivir en los pacientes infectados con los virus de Influenza A/H1N1 y A/H3N2. Cuando la información sobre el subtipo de virus influenza no está disponible, el paciente debe ser tratado con zanamivir u oseltamivir (10,11).

Resulta importante conocer cuándo una infección es de etiología viral, porque determina un cambio en la conducta clínica y en el manejo terapéutico del paciente. El diagnóstico de laboratorio de los virus respiratorios permite confirmar el agente causal, conocer la epidemiología de la infección, a la vez que determina las connotaciones sobre la salud pública, en particular de los virus influenza. Al igual que la mayoría de los microorganismos, los virus se pueden identificar de forma directa o indirecta. Las pruebas directas evidencian la presencia del virus o de algunos de sus antígenos en los tejidos o fluidos humanos. Las pruebas indirectas demuestran el contacto del hospedero con el agente viral mediante la determinación de anticuerpos específicos contra el virus.

Para monitorear la actividad de los virus influenza resulta necesario: a) realizar el seguimiento de enfermedades tipo Influenza (ETI); b) determinar cuáles virus de influenza están circulando; c) detectar los cambios genéticos del virus, y d) monitorear las infecciones respiratorias agudas graves (IRAG) para medir el efecto sobre las hospitalizaciones y muertes. Entre los indicadores que definen el comienzo de la temporada de Influenza está el porcentaje de muestras respiratorias positivas para los virus influenza (8).

Planteamiento del problema

La OMS lleva a cabo la vigilancia mundial de la Influenza a través del Sistema Mundial para la Vigilancia y Respuesta de Influenza (GISRS por sus siglas en inglés). La OMS propuso en el 2005 utilizar la estrategia de vigilancia centinela de esta enfermedad, la cual fue adoptada por El Salvador a partir de 2007. Esta estrategia recomienda realizar la vigilancia centinela de Influenza en aquellos sitios o unidades que detectan casos de IRAG y ETI. En El Salvador, la vigilancia centinela se realiza en cuatro hospitales que vigilan las IRAG, en ocho centros de

salud para la vigilancia de las ETI y en el Centro Nacional de Influenza ubicado en el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de Microbiología del país (13).

El Manual para el diagnóstico de laboratorio y la vigilancia virológica de la influenza de la OMS establece que las muestras clínicas para el aislamiento de los virus influenza en cultivos celulares, para la detección directa de antígenos o de ácidos nucleicos virales, deben ser colectadas durante los primeros tres hasta cinco días de iniciados los síntomas clínicos (14).

En El Salvador, la vigilancia de laboratorio para virus influenza se realiza empleando el algoritmo diagnóstico que se describe a continuación, el cual tiene su base en el tipo de enfermedad respiratoria del paciente y la fecha de toma de la muestra después del inicio de los síntomas:

Inmunofluorescencia indirecta (IFI):

- Muestras de pacientes con ETI e IRAG tomadas de 1 a 5 días desde la FIS.

Prueba de transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR en tiempo real):

- Muestras de pacientes con IRAG tomadas de 6 a 10 días desde la FIS
- Muestras de pacientes con ETI e IRAG positivas para Influenza por IFI
- Muestras de casos respiratorios inusitados (IRAGI)

Aislamiento viral mediante cultivo de células:

- Muestras positivas a virus influenza por IFI.
- Muestras de RT-PCR en tiempo real positivas para virus influenza

En los laboratorios departamentales que participan en la vigilancia de influenza, el diagnóstico se realiza por la prueba de IFI. Estos laboratorios envían al LNR el 100% de las muestras positivas para la subtipificación y el 10% de las muestras negativas para el control de calidad.

Existen estudios que demuestran que las pruebas de IFI carecen de sensibilidad diagnóstica (15), por lo que se pierde la posibilidad de diagnosticar casos de Influenza al no aplicar una prueba con mayor sensibilidad. Dado que el algoritmo diagnóstico existente en El Salvador no contempla la realización de pruebas moleculares durante los primeros 5 días del comienzo de los síntomas (período de mayor carga viral), se pudiera reducir la positividad diagnóstica de los virus influenza (15). En el país no hay reportes de estudios que analicen los resultados de la vigilancia de laboratorio de virus influenza, en términos de la positividad diagnóstica.

Justificación

La vigilancia centinela de Influenza consiste en la recolección, integración, verificación y análisis de la información epidemiológica detallada en un reducido conjunto de unidades monitoras. Este modelo es más eficiente que la vigilancia general, porque obtiene información más exhaustiva y detallada con una inversión menor. La mayor riqueza de esta información consiste en hacer un análisis más completo y, por lo tanto, orientar mejor las intervenciones de prevención y control. En estas unidades se debe garantizar la detección de los casos, la obtención de muestras y su posterior traslado al LNR para la confirmación diagnóstica y la subtipificación viral. Esto posibilita monitorear los virus circulantes para recomendar la composición de las vacunas, evaluar la resistencia a los agentes antivirales, así como los riesgos epidemiológicos y detectar la aparición de virus influenza con potencial pandémico (16).

Conocer la capacidad diagnóstica de las pruebas de laboratorio empleadas para la vigilancia de los virus Influenza contribuirá a la revisión, modificación y documentación del algoritmo nacional, permitirá optimizar recursos, así como utilizar oportunamente las pruebas para la vigilancia de esta enfermedad.

Preguntas de investigación

¿Cuál es el rendimiento actual de la prueba de IFI para la vigilancia de Influenza según la fecha de toma de la muestra a partir de la FIS?

¿En la vigilancia de influenza, cuál es la positividad de las muestras con relación al cuadro clínico y las características sociodemográficas de los pacientes registrados en el Sistema de Vigilancia Epidemiológica en El Salvador durante los años 2015 al 2017?

OBJETIVOS:

General

Evaluar el desempeño de la prueba de inmunofluorescencia indirecta y de las variables predictoras de positividad para la vigilancia de Influenza en el Laboratorio Nacional de Referencia de El Salvador en el período 2015-2017.

Específicos

1. Evaluar la IFI como método diagnóstico de influenza en muestras nasofaríngeas, referidas por los centros e instituciones de salud que vigilan las ETI, IRAG e IRAGI.
2. Determinar los predictores de riesgo de infección por virus influenza en los pacientes registrados en el Sistema de Vigilancia Epidemiológica en El Salvador.

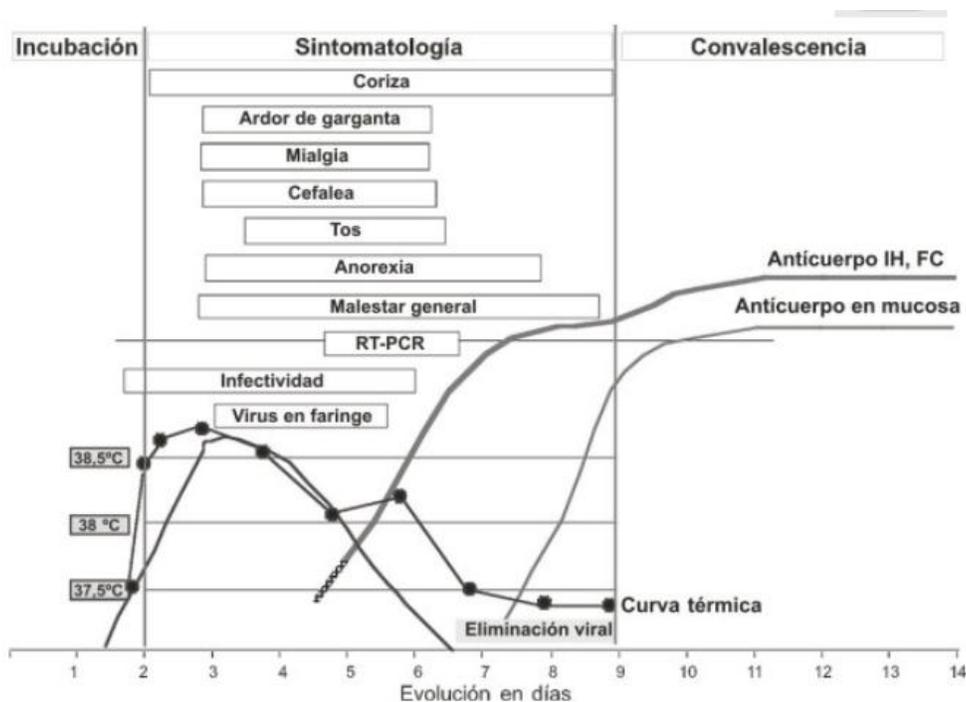
MARCO TEÓRICO

La investigación del agente causal de la Influenza se realiza en muestras de secreciones respiratorias, siendo el aspirado nasofaríngeo y el hisopado nasofaríngeo, los productos patológicos de elección para pacientes pediátricos y adultos, respectivamente, debido a la mayor concentración de virus presentes. (17). Las pruebas diagnósticas muestran diferencias en cuanto a sensibilidad y especificidad entre las técnicas, su uso depende del tipo de laboratorio que realiza el estudio, la capacidad técnica del personal y el tipo de muestra que emplea. (14). Entre los métodos diagnósticos más utilizados están los ensayos inmunoenzimáticos, las pruebas de inmunofluorescencia para detección de antígenos virales, el cultivo y las pruebas moleculares. La utilidad de cada uno de estos métodos ha cambiado a lo largo de los años, en particular con la aparición del virus de influenza pandémico H1N1pdm 2009. Si bien los inmunoensayos rápidos se habían utilizado con anterioridad, su escasa sensibilidad para la detección del nuevo subtipo pandémico de 2009 puso en duda su aplicación. También se plantearon preocupaciones sobre la baja sensibilidad de las pruebas de detección de antígenos utilizados en la inmunofluorescencia. (18). Las primeras pruebas moleculares para el diagnóstico de los virus influenza eran técnicamente complejas, pero han sido reemplazadas por métodos más modernos, en particular los ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de transcripción reversa en tiempo real (RT-PCR en tiempo real), que en la actualidad constituye el método de elección en muchos laboratorios para detectar y subtipificar los virus influenza. (19) También se puede emplear con idénticos fines los sistemas de PCR con posterior secuenciación de los ácidos nucleicos. Los métodos moleculares permiten estudiar muestras respiratorias obtenidas durante los primeros 10 días de iniciados los síntomas respiratorios y en muestras de órganos de fallecidos, (20), pero la probabilidad de detección viral disminuye rápidamente a partir del séptimo día de la FIS. (21).

Influenza estacional

Tiene un periodo de incubación de uno a cuatro días, con un promedio de dos días.

La enfermedad puede ser asintomática hasta en un 50% de las personas infectadas o evolucionar gravemente hasta llegar a la muerte. Se caracteriza por la presencia de cefalea, congestión nasal, dolor de garganta, fiebre $\geq 38^{\circ}\text{C}$, tos intensa, malestar general, mialgias y pérdida de apetito. Otros síntomas pueden ser disfonía, congestión ocular con lágrimas, dolor retroesternal al toser y síntomas gastrointestinales. Estas manifestaciones, por lo común, son de curso limitado y el paciente se recupera de dos a siete días. En la figura I, se describe la evolución clínica de los pacientes con Influenza estacional (23):



Fuente: Vargas-Córdoba. Influenza A H1N1 de origen porcino: métodos diagnósticos. Revista de la Facultad de Medicina. 2010; 58 (1). p: 44 - 59

Figura I: Evolución clínica de los pacientes con influenza estacional.

Los síntomas de la influenza suelen variar de acuerdo a la edad del paciente. En los adultos sanos, el cuadro clínico puede presentarse con diferentes

intensidades, en los niños aparece fiebre alta y es común la presencia de linfadenopatía cervical, cuadros de bronquitis y bronquiolitis, además de síntomas gastrointestinales. Los ancianos casi siempre presentan fiebre, que se acompaña de síntomas respiratorios y generales, pero el cuadro es menos florido que en los niños (22).

Las complicaciones graves de la enfermedad y la muerte ocurren más frecuentemente en ancianos y niños pequeños, personas con inmunodepresión y mujeres embarazadas, que son más propensas a presentar las formas graves. Una complicación frecuente es la neumonía bacteriana grave causada por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* o *Staphylococcus aureus*, debido a que las infecciones virales del tracto respiratorio deterioran los mecanismos de defensas locales y facilitan la adherencia de bacterias al sistema respiratorio (24).

Vigilancia de influenza

En la vigilancia de los sucesos capaces de producir una amenaza para la salud de la población, resulta fundamental el monitoreo, para instituir medidas de prevención y control de manera oportuna (25).

Para establecer los sucesos sujetos a vigilancia se deben tener en cuenta los siguientes criterios (25):

1. Debe ser considerado por el Reglamento Sanitario Internacional (RSI), como un evento de salud pública de interés internacional. Por ejemplo: viruela, poliomielitis (por poliovirus salvaje), SARS, influenza humana causada por un nuevo virus, entre otros.
2. Contemplar los eventos más importantes de salud pública en el país, de acuerdo con la magnitud, potencial de diseminación, trascendencia (gravedad, relevancia social y económica) y vulnerabilidad (medios de control y prevención existentes)
3. Tener en cuenta otros compromisos internacionales, por ejemplo los establecidos por los países de la Región de las Américas con la OPS/OMS

para la erradicación y eliminación del sarampión, la rubeola y el síndrome de rubeola congénita y los esfuerzos para introducir la vacuna estacional contra la influenza.

Dentro de los objetivos de la vigilancia de influenza según el protocolo genérico de Organización Panamericana para la Salud y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos. (OPS/CDC) (25), están:

1. Detectar oportunamente la aparición de nuevos subtipos en cumplimiento del RSI 2005.
2. Detectar brotes de enfermedades respiratorias inusuales e inesperadas.
3. Determinar las características epidemiológicas de la influenza estacional y otras enfermedades respiratorias virales (por ejemplo: *Adenovirus*, *Parainfluenza* y por el virus sincitial respiratorio).
4. Vigilar los virus de influenza estacional y formular recomendaciones para la composición anual de las vacunas, determinar la concordancia entre la vacuna y las cepas que están en circulación.
5. Calcular la carga de ETI y de IRAG en los seres humanos.
6. Orientar la formulación de las políticas y las directrices para la prevención y control de la influenza.
7. Sentar las bases para estudios futuros sobre la repercusión de las intervenciones de prevención y control de enfermedades

Para alcanzar estos objetivos, la OPS y el CDC recomiendan realizar la vigilancia de influenza en dos modalidades (25):

1. Vigilancia centinela de:

- ETI en los pacientes ambulatorios
- IRAG y la mortalidad relacionada con la misma, en hospitales y unidades de salud con servicios de hospitalización.

2. Vigilancia nacional intensificada:

- Para detectar un caso inusual o inesperado de IRAG, que debe ser detectado en todos los establecimientos de salud.

Enfermedad tipo influenza (ETI)

Se define como ETI al paciente de cualquier edad con historia de aparición súbita de fiebre superior a 38°C, tos o dolor de garganta y ausencia de otros diagnósticos.

La captación de los casos de ETI se realiza entre los pacientes atendidos en consulta externa o emergencia de la unidad centinela y se registran aquellos casos que cumplan con la definición de ETI, se recolectan los datos de cada paciente en la ficha específica: lugar de atención y fecha, nombre, fecha de nacimiento, lugar de residencia y FIS (25).

Para determinar el componente etiológico de la ETI se recolectan muestras de secreciones respiratorias de algunos pacientes. El muestreo se realiza por conveniencia, durante los días y periodos establecidos en la unidad de salud, a los pacientes que cumplan con la definición de caso ETI, los que tienen hasta 72 horas de inicio de la fiebre y considerando integrar todos los grupos de edad, para evitar sesgo de selección (25).

Infección respiratoria aguda grave (IRAG)

Se define como IRAG al paciente con aparición súbita de fiebre mayor de 38°C, tos o dolor de garganta, disnea o dificultad para respirar y que necesita hospitalización.

Para la captación de los casos deben seleccionarse entre los hospitalizados que cumplan con la definición de IRAG. De las historias clínicas se recolecta información como: lugar de atención y fecha, nombre, fecha de nacimiento, lugar de residencia y FIS (25).

Infección respiratoria aguda grave inusitada (IRAGI)

Paciente que ingresa con IRAG, con deterioro clínico sin etiología determinada, tiene una evolución rápida hasta el choque séptico en 72 horas, con necesidad de vasopresores y de ventilación mecánica asistida, y con algún antecedente epidemiológico como: ser trabajador de salud en contacto directo con pacientes enfermos, personas con contacto directo o indirecto con aves o cerdos, tener antecedente de viaje a sitios con circulación de algún agente respiratorio de alta patogenicidad, hasta dos semanas previas al inicio de síntomas. Se considera también como IRAGI, a la muerte por IRA o cuadro respiratorio de etiología desconocida (25).

Virus influenza

El reservorio animal de la influenza A se asocia con nuevos segmentos genéticos, siendo un evento común con los virus de influenza A, la generación de virus que pueden replicarse de manera más eficiente o que tienen nuevas propiedades antigénicas. Cuando esto ocurre, un nuevo virus que infecta a los seres humanos puede producir una pandemia. Las dos cepas más importantes de la influenza tipo A son A/H1N1 y A/H3N2, en términos de las infecciones humanas. En contraste, los virus de influenza B mutan más lentamente, y no tienen un reservorio animal conocido. Se reconocen dos linajes formados por variaciones de los virus de la influenza B, que son el virus prototipo B/Victoria/2/87 (linaje Victoria) y el virus prototipo B/Yamagata/16/88 (linaje Yamagata). El linaje B/Yamagata fue el principal virus que circuló hasta la década de 1980, cuando aparecen los virus de linaje B/Victoria. Desde entonces, ha habido co-circulación de ambos linajes del virus influenza a nivel mundial (26).

Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de influenza

Las infecciones por los virus influenza incluyen la influenza A(H3N2), A(H1N1)pdm09, influenza B y con menos frecuencia influenza C. La interpretación de los resultados de las pruebas de detección de los virus influenza depende de la técnica utilizada, su sensibilidad y especificidad en relación al

“estándar de oro”, que son las pruebas moleculares y la prevalencia de la enfermedad en la población (14).

Las muestras respiratorias se deben tomar tan cerca de la aparición de los síntomas como sea posible para maximizar la posibilidad de detección de los virus influenza en la mayoría de las personas, pues la carga viral en las vías respiratorias altas disminuye después de 3–4 días de la FIS. Las personas con compromiso inmunológico pueden tener carga viral de influenza por periodos prolongados.

Prueba de RT-PCR en tiempo real

Los ensayos moleculares permiten detectar ARN viral de influenza mediante la PCR (14,28), que es una técnica utilizada para amplificar regiones específicas de ADN a partir de niveles muy bajos del ADN molde. La RT-PCR en tiempo real es una variante de esta técnica en la que el ARN se transcribe en primer lugar a ADN complementario (ADNc) y este ADN se amplifica por PCR. En la sección de virología del LNR de El Salvador, se realiza siguiendo el protocolo de RT-PCR en tiempo Real del *Manual para el diagnóstico de laboratorio y vigilancia virológica de influenza de la OMS*. Esta prueba es considerada por el CDC como el estándar de oro para la detección del virus de influenza por tener una alta sensibilidad y especificidad, proveer un resultado rápido, permite realizar la subtipificación viral y es el único método que detecta y diferencia las cepas virales causantes de la influenza estacional del virus de influenza pandémica de 2009 AH1N1 (14).

Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Esta técnica consiste en la detección de antígenos mediante anticuerpos fluorescentes directamente en las muestras clínicas. Es un método rápido y sensible para diagnosticar diversas infecciones virales respiratorias. Durante los últimos años, los anticuerpos monoclonales contra varios virus respiratorios clínicamente importantes están comercialmente disponibles y

han sido evaluados exhaustivamente en muchos laboratorios. Por su sencillez esta técnica resulta de utilidad en la identificación de aislamientos virales en cultivo celular. Sin embargo, su principal limitación es la sensibilidad que resulta de moderada a baja y oscila entre 35-65 % (14,15,27).

Cultivo celular

El cultivo de los virus influenza en líneas celulares se realiza en muestras respiratorias y hasta hace muy poco tiempo era considerado como la prueba diagnóstica de referencia; sin embargo es una técnica demorada y algunos subtipos virales crecen poco en cultivos celulares, además es incapaz de diferenciar las cepas virales causantes de influenza estacional de la cepa pandémica de 2009 AH1N1 (14).

METODOLOGÍA

Diseño de estudio

Se realizó un estudio de corte transversal de evaluación de pruebas diagnósticas en la sección de Virología del LNR de El Salvador en el período 2015 al 2017.

Sitios de estudio

El estudio se llevó a cabo con los registros y datos generados por los centros de vigilancia centinela que comprenden 4 hospitales nacionales, 8 Unidades Comunitarias de Salud Familiar (UCSF) de distintos departamentos del país y el Laboratorio Nacional de Referencia de influenza, detallado en la **tabla I**:

Tabla I: Centros centinela que participan en la vigilancia de influenza en El Salvador 2015 – 2017.

Sistema de Vigilancia	Vigilancia IRAG	Vigilancia ETI
Sitios centinela	<ul style="list-style-type: none">• Hospital San Juan de Dios, departamento de Santa Ana• Hospital de niños Benjamín Bloom, departamento de San Salvador• Hospital Nuestra Señora de Fátima, departamento de Cuscatlán• Hospital de San Juan de Dios, departamento de San Miguel	Departamento de Santa Ana: <ul style="list-style-type: none">• UCSF Tomás Pineda• UCSF San Rafael Departamento La Libertad: <ul style="list-style-type: none">• UCSF Díaz del Pinal Departamento San Salvador: <ul style="list-style-type: none">• UCSF Barrios• UCSF Unicentro• UCSF Zacamil Departamento Cuscatlán: <ul style="list-style-type: none">• UCSF Periférica de Cojutepeque Departamento San Miguel: <ul style="list-style-type: none">• UCSF La Presita

Fuente: Ministerio de Salud, 2015 - 2017

En el caso de las IRAG, cada sitio centinela debió coleccionar y enviar al LNR cinco muestras semanales, mientras que para los casos de ETI, el número de muestras

a coleccionar fue de tres semanales. Los componentes obtenidos de la vigilancia de influenza alimentaron al sistema de información VIGEPES (integrante del sistema de vigilancia epidemiológica del país), con los siguientes datos:

- Del paciente: nombre, edad, sexo, manifestaciones clínicas.
- Demográficos: departamento, municipio, dirección.
- Institución: establecimiento que toma la muestra.
- Muestras: FIS, fecha de toma de muestras, fecha de envío de la muestra.
- Laboratorio: fecha de recepción de la muestra en el LNR, tipo de prueba, fecha de informe de resultados y resultados.

Población de estudio

Se obtuvo una base de datos de 7445 registros de pacientes que consultaron en los establecimientos de vigilancia de ETI, IRAG e IRAGI, que fueron seleccionados para la toma de muestras por definición de casos, entre los años 2015 al 2017.

Tamaño de la muestra

Se revisó la base de datos y se eliminaron registros incompletos, se obtuvieron 5726 registros de pacientes que consultaron en los establecimientos de salud pertenecientes al Ministerio de Salud (MINSAL) que vigilan las ETI e IRAG/IRAGI. Estos registros tenían al menos una prueba realizada por laboratorio para estudio de virus influenza. De los 5726 registros se seleccionaron para cumplir con el primer objetivo, todos los registros en los que se realizó una prueba de IFI y una prueba de RT-PCR en tiempo real a la misma muestra, lo que representó un total de 1048 registros. Estos 1048 registros se clasificaron en tres grupos de acuerdo al día en que se tomó la muestra para la vigilancia de influenza. (Tabla II)

Tabla II: Número de registros con resultado de prueba IFI y RT-PCR en tiempo real, Laboratorio Nacional de Referencia, 2015 – 2017.

Día de toma de muestras para la vigilancia de influenza	Número de registros obtenidos
Del primer al quinto día	765
Del sexto al décimo día	233
Después del décimo día	50
Total	1,048

Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica 2015 - 2017

Para evaluación del segundo objetivo de la investigación, de los 5726 registros obtenidos se clasificaron en tres grupos según el tipo de vigilancia. (Tabla III).

Tabla III. Número de registros obtenidos en la vigilancia de influenza confirmados por laboratorio, Laboratorio Nacional de Referencia, 2015 - 2017.

Tipo de vigilancia	Número de registros obtenidos
Vigilancia ETI	2,131
Vigilancia IRAG	2,814
Vigilancia IRAGI	781
Total	5,726

Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica 2015 – 2017

Criterios de exclusión

En la evaluación de las pruebas de laboratorio se excluyeron todos los registros que solo presentaban un solo resultado de laboratorio.

Para relacionar el cuadro clínico, la fecha de toma de la muestra respiratoria después de la FIS, la edad y sexo de los pacientes y el tipo de vigilancia realizada con la positividad de al menos una de las pruebas de laboratorio empleadas en la detección de virus influenza- (IFI o RT-PCR en tiempo real), se excluyeron todos los registros que carecían de datos en las variables clínicas y sociodemográficas, de laboratorio, así como el tipo de vigilancia.

Operacionalización de variables

Las variables para el análisis utilizadas en este estudio se detallan en la tabla IV:

Tabla IV. Operacionalización de variables

Variables	Tipo de variable	Escala	Definición
Resultado IFI	Dicotómica	Positivo Negativo	<u>Positivo</u> : presencia de fluorescencia (virus influenza) <u>Negativo</u> : ausencia de fluorescencia
Resultado RT-PCR en tiempo real	Dicotómica	Positivo Negativo	<u>Positivo</u> : presencia de ARN viral influenza <u>Negativo</u> : ausencia de ARN viral influenza
Centro Centinela de ETI	Cualitativa Nominal	Vigila ETI	Establecimientos de salud que vigilan la enfermedad tipo influenza: <ul style="list-style-type: none"> • UCSF Tomás Pineda UCSF San Rafael del • UCSF Díaz del Pinal • UCSF Barrios • UCSF Unicentro • UCSF Zacamil • UCSF Periférica de Cojutepeque • UCSF La Presita
Centro Centinela de IRAG	Cualitativa Nominal	Vigila IRAG/IRAGI	Hospitales que vigilan la enfermedad respiratoria aguda grave <ul style="list-style-type: none"> • Hospital San Juan de Dios de Santa Ana • Hospital de niños Benjamín Bloom de San Salvador • Hospital Nuestra Señora de Fátima • Hospital San Juan de Dios de San Miguel
Fecha de inicio de síntomas	Cuantitativa Continua	Fecha de aparición de síntomas	Día de aparición de síntomas después de la infección
Edad	Cuantitativa Discreta	Número de edad cumplida en la fecha de consulta	Cantidad de años, meses y días cumplidos a la fecha de aplicación del estudio.

VARIABLES	Tipo de variable	Escala	Definición
Sexo	Cualitativa Nominal	Masculino Femenino	Característica biológica que define al humano como hombre o mujer
Síntomas de ETI	Cualitativa Nominal	Fiebre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ Tos Dolor de garganta	Síntomas de paciente con sospecha de Influenza atendidos en un establecimiento que vigila la ETI
Síntomas de IRAG	Cualitativa Nominal	Fiebre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ Tos Dolor de garganta Disnea Tiraje Estridor en reposo Imposibilidad para beber Intolerancia a los alimentos Letargia	Síntomas de paciente sospechoso a Influenza, con complicaciones clínicas, procedente de un establecimiento de IRAG

Procedimiento para la recolección de datos

Se realizó una revisión retrospectiva. Se utilizó la técnica de revisión documental de la base de datos de Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (VIGEPES). Esta base muestra los resultados de las diferentes pruebas de laboratorio utilizadas para identificar los virus Influenza (IFI, RT-PCR en tiempo real y cultivo celular) durante el período de estudio: enero de 2015 a diciembre de 2017.

La base de datos de VIGEPES tiene un aproximado de 1700 a 3000 registros de pacientes por año, estos consultaron y se definieron como caso sospechoso de ETI, IRAG o IRAGI. El sistema de vigilancia dispone de diferentes campos para el registro de los pacientes. Para la obtención de los datos se realizó el siguiente procedimiento:

1. Para acceder a la base de datos, se ingresó al sistema VIGEPES a través de un usuario y clave, que previamente fue solicitado como empleado del MINSAL.
2. Ingresando al sistema se seleccionó la opción “monitoreo”, luego “vigilancia centinela” “individual de caso” como se muestra en la **figura II**:



Figura II: Menú del sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

3. Se desplegó una ventana llamada “Vigilancia centinela integral” para introducir los datos que se necesitan para el estudio, por ejemplo:
Año, **Institución** “ministerio de salud”, **nivel de administrativo 1** (región de salud) “**todos**”, **nivel administrativo 2** (Sistema básico de salud integral) “**todos**”, **establecimiento** “**todos**”, **departamento** “**todos**”, **evento (ETI, IRAG e IRAGI)**, **fecha de consulta** rango de fecha a estudio. (Figura III).

Reporte Vigilancia Centinela Integral	
Año	2018 ▼
Institucion	MINISTERIO DE SALUD ▼
Nivel Administrativo 1	Region Occidental ▼
Nivel Administrativo 2	Todos ▼
Establecimiento	[Todos] ▼
Departamento	[Todos] ▼
Municipios	[Todos] ▼
Evento	ETI ▼
Fecha de consulta	De 01-01-2015 a 31-12-2015
Mostrar	

Figura III: Submenú Reporte de vigilancia centinela integral

- Se desplegó la base de datos y fue exportada al programa Microsoft Excel 2013, este procedimiento se realizó para cada año en estudio y para cada evento a vigilar.

De los registros obtenidos en la base de datos se utilizaron las siguientes variables:

- Personales: edad, sexo
- Institución: establecimiento que toma la muestra (vigilancia ETI e IRAG/IRAGI).
- Muestras: FIS, fecha de toma de muestras
- Laboratorio: tipo de prueba realizada, resultado
- Datos clínicos: signos y síntomas clínicos.

Los datos recolectados fueron transferidos a una base de datos en Excel y analizados en los sistemas estadísticos SPSS versión 23 y Epidat versión 4.2.

Control de calidad de los resultados y base de datos

La evaluación del funcionamiento de la vigilancia de las IRAG y la ETI es realizada 1 - 2 veces al año y una vez al año, por la Dirección de Vigilancia sanitaria y el LNR de Microbiología, respectivamente, ambas pertenecientes al MINSAL. Esto permite evaluar definiciones de casos por parte de los médicos, el desempeño del

personal de enfermería y el componente de laboratorio en la vigilancia de influenza.

El laboratorio de Virología perteneciente al LNR de El Salvador participa anualmente en el programa de evaluación externa del desempeño organizado por el CDC y tiene las siguientes funciones:

1. Informar inmediatamente a las autoridades nacionales y a la OMS los resultados de diagnósticos de laboratorio, con potencial importancia directa e indirecta para la salud pública.
2. Enviar activamente los resultados del análisis de muestras/aislados virales del país a las autoridades nacionales mediante los laboratorios de referencia designados por la OMS.
3. Desarrollar e implementar procedimientos estándar para compartir información de laboratorio con diferentes socios en el país.

La base de datos de VIGEPES es digitada por un ingeniero en sistemas y supervisada mensualmente por la coordinadora de microbiología de vigilancia en salud del LNR.

Análisis de datos

Para cumplir con el primer objetivo se realizaron las siguientes estimaciones relacionadas con la evaluación de pruebas diagnósticas:

- a) Sensibilidad (S) o proporción de verdaderos positivos como la probabilidad de que la prueba brinde un resultado positivo condicionada a que el individuo esté enfermo.
- b) Especificidad (E) o proporción de verdaderos negativos como la probabilidad de que la prueba brinde un resultado negativo condicionada a que el individuo no esté enfermo.
- c) Valores predictivos positivos: probabilidad de tener la enfermedad si la prueba ha sido positiva.

- d) Valores predictivos negativos: probabilidad de no tener la enfermedad si la prueba ha sido negativa.
- e) Razones de probabilidad positiva y negativa (cociente de probabilidad)
Prueba de Likelihood: miden cuánto más probable es un resultado concreto (positivo o negativo) según la presencia o ausencia de la enfermedad independientemente de la prevalencia de la misma.
- f) Coeficiente de Kappa: nivel de concordancia entre dos pruebas de diagnóstico

Sensibilidad (Se) = $a / (a + c)$

Especificidad (Es) = $d / (b + d)$

Valor predictivo positivo (VPP) = $a / (a + b)$

Valor predictivo negativo (VPN) = $d / (c + d)$

Razón de verosimilitud positivo = $Se / (1 - Es)$

Razón de verosimilitud negativo = $(1 - Se) / Es$

Donde:

a: Verdaderos positivos (VP): enfermos con la prueba positiva

b: Falsos positivos (FP): no enfermos con la prueba positiva

c: Falsos negativos (FN): enfermos con la prueba negativa

d: Verdaderos negativos (VN): no enfermos con la prueba negativa

a + c: Casos con patrón de referencia positivo (enfermos)

b + d: Casos con patrón de referencia negativo (no enfermos)

a + b: Casos con la prueba diagnóstica positiva

c + d: Casos con la prueba diagnóstica negativa

P_o la proporción de concordancia observada

P_e la proporción esperada de veces que k evaluadores coinciden. (Tabla V)

Coeficiente de Kappa de Cohen = $kappa = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$

Los valores de kappa varían de -1 a +1. Mientras más alto sea el valor de kappa, más fuerte será la concordancia. Cuando:

Kappa = 1, existe concordancia perfecta.

Kappa = 0, la concordancia es la misma que se esperaría en virtud de las probabilidades.

Kappa < 0, la concordancia es más débil que lo esperado en virtud de las probabilidades;

Tabla V: Patrón de referencia

		PATRON DE REFERENCIA		
		Positivos	Negativos	
PRUEBA DIAGNÓSTICA	Positivos	Verdaderos positivos (a)	Falsos positivos (b)	a + b
	Negativos	Falsos negativos (c)	Verdaderos negativos (d)	c + d
		a + c	b + d	a+b+c+d

Fuente: Sensibilidad y especificidad. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística, España (28).

Se realizó el cálculo de los días transcurridos entre la FIS y la fecha en que se tomó la muestra (FTM) para el análisis de laboratorio, siendo clasificados los registros en tres grupos:

Grupo 1: 1 - 5 días

Grupo 2: 6 - 10 días

Grupo 3: más de 10 días

Para dar salida al objetivo 2, se analizaron los factores demográficos como el género y los grupos de edades de los pacientes (de 0 – 4, 5 – 24, 25 – 49, 50 – 64 y ≥65 años). Esta estratificación por grupos de edades está basada en un estudio del CDC, EEUU (25). Se realizó un análisis de regresión logística univariada para calcular el Odds ratio (OR) por tipo de evento (ETI, IRAG, IRAGI) para determinar un subconjunto de signos y síntomas estadísticamente significativos ($p < 0.05$), posteriormente se eliminaron los signos y síntomas con una

$p > 0.05$, así se construyó un modelo de regresión logística multivariado con el fin de construir el mejor modelo que representa al conjunto final de predictores. Estos predictores se utilizaron para revisar las definiciones de casos aplicados a los pacientes con sospecha de IRA en la vigilancia centinela de virus influenza, con respecto a la probabilidad de acierto a los resultados positivos emitidos por el laboratorio.

Para realizar la regresión logística, se utilizó el paquete estadístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versión 23 y para la evaluación de pruebas diagnósticas se empleó el sistema Epidat versión 4.1.

Control de sesgos

Este estudio utilizó la información que se recoge como parte de la vigilancia de virus respiratorios en el país, en la que se le realiza la prueba de RT-PCR en tiempo real a las muestras que han tenido un resultado positivo a IFI, por lo que el número de muestras positivas por el método de referencia es mayor. Esto puede introducir un sesgo de selección y producir un aumento de la sensibilidad y concordancia de la prueba IFI en los primeros cinco días del inicio de los síntomas. Además, se obtuvo un número bajo de muestras requeridas en el grupo de muestras tomadas después del décimo día para la realización de estudios de evaluación de pruebas diagnósticas. Este sesgo resultó de difícil control por la naturaleza de la información utilizada, por lo que solo se podría resolver haciendo otros estudios con asignación aleatoria de los individuos a estudiar en cada periodo según los días transcurridos para la toma de muestras, después de la FIS.

También pudieran existir sesgos de información, pues por ser un estudio retrospectivo no se obtuvo control en la toma, manejo y envío de las muestras hasta el momento del análisis de laboratorio. Además, en el contexto de evaluación de los predictores clínicos, se observó que el sistema de vigilancia epidemiológico carece de información detallada por los médicos que alimentan la ficha electrónica VIGEPES (datos de cuadro clínico), por lo que hubo que eliminar los

records con información incompleta y se perdió 23,9% de la información en los tres años de estudio.

Consideraciones éticas

El protocolo de esta investigación fue sometido al Comité de Ética del Instituto Nacional de Salud de El Salvador, una vez que fue aprobado por la comisión científica del Instituto Pedro Kouri de Cuba.

Para el presente estudio, se utilizaron datos generados entre los años 2015 y 2017 de la vigilancia centinela de influenza, procedentes del sistema de vigilancia de epidemiológica VIGEPES, por lo que no se necesitó el consentimiento informado de los pacientes.

El LNR recibió información verbal y escrita sobre los objetivos y procedimientos de la investigación. Las técnicas y procedimientos realizados en el estudio no comprometieron las acciones rutinarias de trabajo de este laboratorio.

Toda la información generada en esta investigación fue debidamente protegida, siendo conservado el anonimato de los pacientes involucrados. En el momento de ser exportadas las bases de datos al software estadístico, se modificó la variable “nombre” de los registros y solo se identificó con un código formado por un número correlativo y año en estudio, que solo ha sido utilizado para identificación del registro y no para identificación individual de la persona. La información escrita, grabada digitalmente y bases de datos relacionadas han sido conservadas exclusivamente por el investigador principal. Otras personas no han tenido ni tendrán acceso a esa información primaria, excepto en el caso de que se necesitó verificar los datos individuales durante el análisis, pero siempre a través y en presencia del investigador principal. La confidencialidad también fue asegurada durante el análisis de los datos. Se utilizó exclusivamente con fines profesionales inherentes a esta investigación. La información resultante de esta investigación será transmitida cuando se considere apropiado a las autoridades de salud, para facilitar el proceso de toma de decisiones.

RESULTADOS

Evaluación de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para la detección del virus influenza.

Se obtuvieron 765 registros de pacientes a los que se le tomaron muestras nasofaríngeas entre el primer y el quinto días después de la FIS, 233 muestras fueron recolectadas entre el sexto al décimo día y 50 muestras fueron colectadas después del décimo día. (Figura 1).

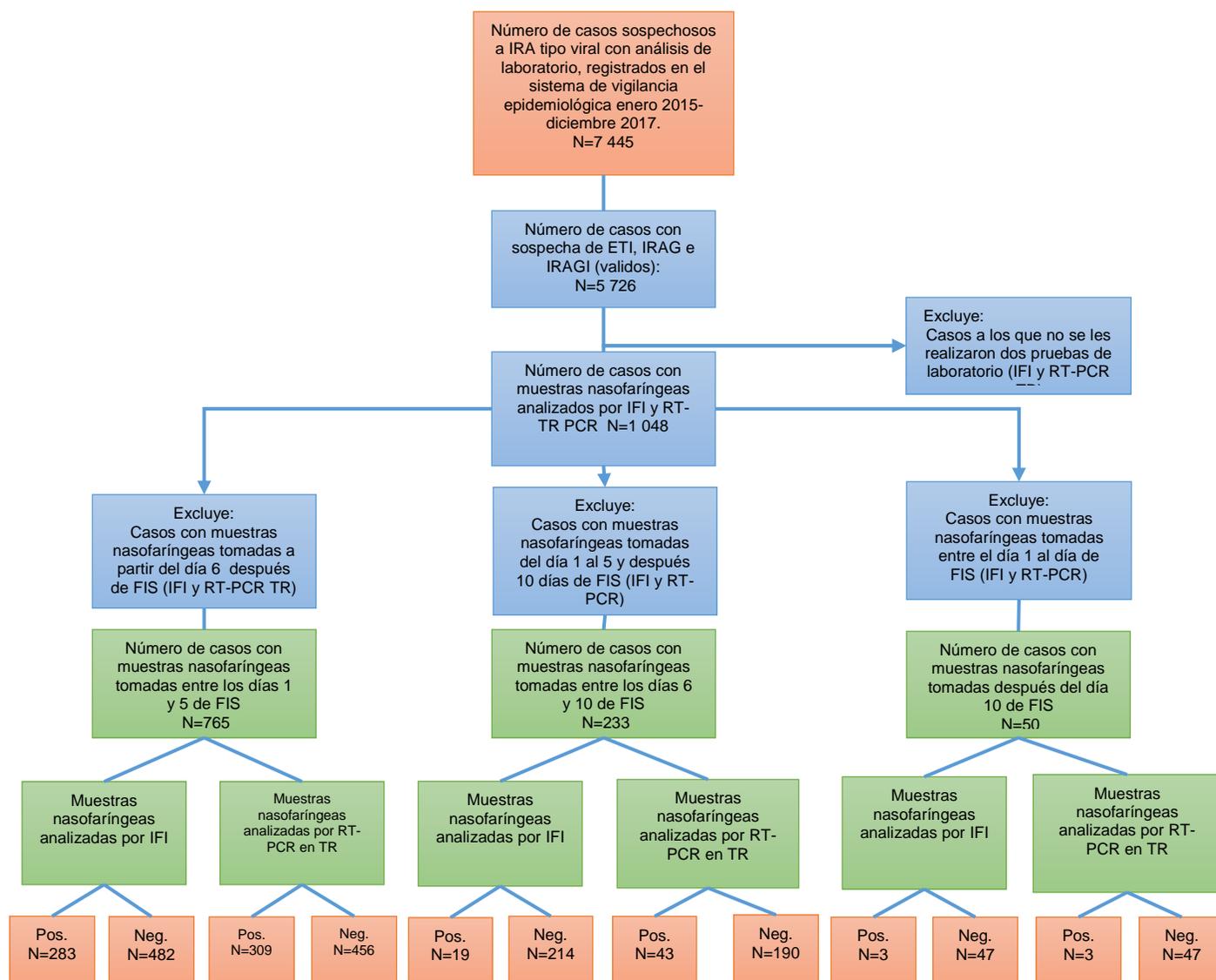


Figura 1: Diagrama de flujo de muestras tomadas entre los días 1 y 5 después de la FIS incorporadas en el estudio.

La evaluación general de la prueba de IFI mostró una sensibilidad diagnóstica para detectar antígenos de virus influenza de 81,9% (IC 95% 77,8 - 86,1%), la especificidad fue 97,8% (IC 95% 96,8 - 99,1%), con un índice de Youden de 0,80. La razón de verosimilitud positiva (RVP) y negativa (RVN) fue de 40,6 y 0,18, respectivamente y el coeficiente de Kappa de 0,828 (datos no mostrados).

La sensibilidad y la especificidad de la prueba de IFI en muestras respiratorias tomadas entre el primer y quinto día de la FIS fue de 87,4% (IC 95% 83,5 - 91,2%) y de 97,1% (IC 95% 95,5 - 98,8%), respectivamente, con un índice de Youden de 0,85. La RVP y RVN fue de 30,6 y 0,1; respectivamente, mientras que el coeficiente de Kappa fue de 0,86. La sensibilidad y especificidad de la prueba de IFI en aquellas muestras tomadas del sexto al décimo día luego de la FIS fue de 44,2% (IC 95% 28,3 - 60,2%) y 100% (IC 95% 99,7 - 100%), respectivamente, con un índice de Youden de 0,44. La RVP no pudo determinar un valor y la RVN obtenida fue de 0,56, mientras que el coeficiente de Kappa fue también de 0,56. La sensibilidad y especificidad de la prueba de IFI en muestras nasofaríngeas tomadas después de los diez días de la FIS fue de 66,7% (IC 95% 0,00 - 100%) y 97,9% (IC 95% 92,7-100%), respectivamente, con un índice de Youden de 0,65. La RVP y RVN fue de 31,3 y de 0,34, respectivamente y el coeficiente de Kappa de 0,64 (Tabla 1).

Tabla 1. Desempeño diagnóstico de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para detección de antígenos de virus influenza según el día de toma de muestras, Laboratorio Nacional de Referencia El Salvador, 2015 – 2017.

	Muestras tomadas entre el día 1 y 5 después de FIS			Muestras tomadas entre el día 6 y 10 después de FIS			Muestra tomadas después del día 10 de FIS		
	Valor	IC (95%)		Valor	IC (95%)		Valor	IC (95%)	
Sensibilidad %	87,4	83,5	91,2	44,2	28,3	60,2	66,7	0,0	100,0
Especificidad %	97,1	95,5	98,8	100,0	99,7	100,0	97,9	92,7	100,0
Índice de validez %	93,2	91,3	95,0	89,7	85,6	93,8	96,0	89,6	100,0
Valor predictivo + %	95,4	92,8	98,0	100,0	97,4	100,0	66,7	0,0	100,0
Valor predictivo - %	91,9	89,4	94,4	88,8	84,3	93,2	97,7	92,7	100,0
Prevalencia %	40,4	36,8	43,9	18,4	13,3	23,6	6,0	0,0	13,6
índice de Youden	0,85	0,8	0,9	0,44	0,3	0,6	0,65	0,1	1,2
Razón de verosimilitud +	30,6	17,9	52,6	-	-	-	31,3	3,8	255,7
Razón de verosimilitud -	0,1	0,1	0,2	0,56	0,4	0,7	0,34	0,0	1,7
	Valor	Significancia aproximada		Valor	Significancia aproximada		Valor	Significancia aproximada	
Coeficiente Kappa	0,86	0,000		0,56	0,000		0,64	0,000	

IC: Intervalo de Confianza; FIS: Fecha de inicio de los síntomas

Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica VIGEPES, 2015 – 2017

Características clínicas y sociodemográficas de los casos positivos a influenza por tipo de vigilancia.

Durante el año del 2015 al 2017, se registraron en el sistema VIGEPES 7445 casos de IRA en pacientes que asistieron a consulta o estaban ingresados en 4 hospitales que vigilan las IRAG y 8 establecimientos que vigilan las ETI. De los 7445 registros, se obtuvo una base de datos válida para este estudio de 5726 registros, de ellos el 37,2% (2131/5726), correspondían a la vigilancia de ETI, el 49,1% (2814/5726) a la vigilancia IRAG y el 13,6% (781/5726) a la vigilancia de IRAGI.

De los 5726 registros válidos, 1048 (13,3%) (1048/5726) correspondían a pacientes a quienes se les realizó el diagnóstico de virus influenza por dos pruebas diagnósticas, la IFI y la RT-PCR en tiempo real. Al resto de los pacientes (4678, 86,7%), solo se les hizo una de estas pruebas para establecer el diagnóstico de virus influenza, según el algoritmo diagnóstico establecido en el país.

En general, la positividad encontrada a virus influenza en 5726 muestras correspondientes a igual número de registros analizados entre los años 2015 y 2017 fue de 8,7%. Por evento de vigilancia, el mayor número de registros examinados pertenecían a pacientes con sospecha de IRAG (2814 registros), con una positividad diagnóstica de 4,5%; le siguió los registros de casos con sospecha de ETI (2131), con una positividad a influenza de 11,5% y finalmente los registros de IRAGI (781), para una positividad de 15,6%. Según el grupo de edad, el porcentaje de positividad a virus influenza más elevado correspondió a los pacientes con edades comprendidas entre 5-24 años (14,4%). Según el sexo de los pacientes, el mayor porcentaje de positividad diagnóstica se encontró en las mujeres (9,3%, 588/2785 registros) con relación a los hombres (8,1%, 238/2941 registros (Tabla 2).

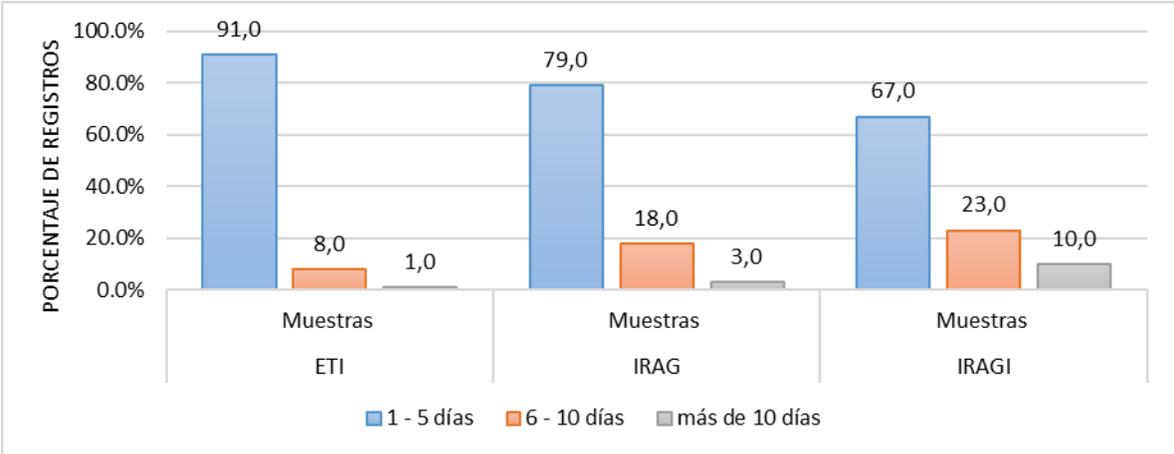
Tabla 2: Frecuencia de positividad a virus influenza en pacientes registrados en el sistema VIGEPES, El Salvador, 2015 – 2017

Variable	Total de muestras			N	ETI		N	IRAG		N	IRAGI		
	N	Positivas			No.	%		N	Positivas		No.	%	
		No.	%						No.				%
Grupo de edad													
0 - 4 años	3064	148	4,8	619	56	9,0	2078	61	2,9	367	31	8,4	
5 - 24 años	1122	162	14,4	745	126	16,9	276	14	5,1	101	22	21,8	
25 - 49 años	662	82	12,4	461	42	9,1	96	13	13,5	105	27	25,7	
50 - 64 años	355	36	10,1	199	12	6,0	92	13	14,1	64	11	17,2	
≥ 65 años	523	68	13,0	107	10	9,3	272	27	9,9	144	31	21,5	
Total	5726	496	8,7	2131	246	11,5	2814	128	4,5	781	122	15,6	
Sexo													
Femenino	2785	258	9,3	889	121	13,6	1506	62	4,1	390	75	19,2	
Masculino	2941	238	8,1	1242	125	10,1	1308	66	5,0	391	47	12,0	
Total	5726	496	8,7	2131	246	11,5	2814	128	4,5	781	122	15,6	

ETI: Enfermedad Tipo Influenza; IRAG: Infección Respiratoria Aguda Grave; IRAGI: IRAG Inusitada

Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica VIGEPES 2015 – 2017.

Como parte de la vigilancia de ETI, de los 2131 registros analizados, el 91,0% de las muestras (1941) fueron tomadas entre el primero y quinto días a partir de la FIS, momento en donde se presenta la mayor carga viral (25). En cambio, el mayor porcentaje de muestras tomadas después del sexto día desde la FIS correspondió a los pacientes bajo vigilancia de IRAG e IRAGI. (Figura 2).

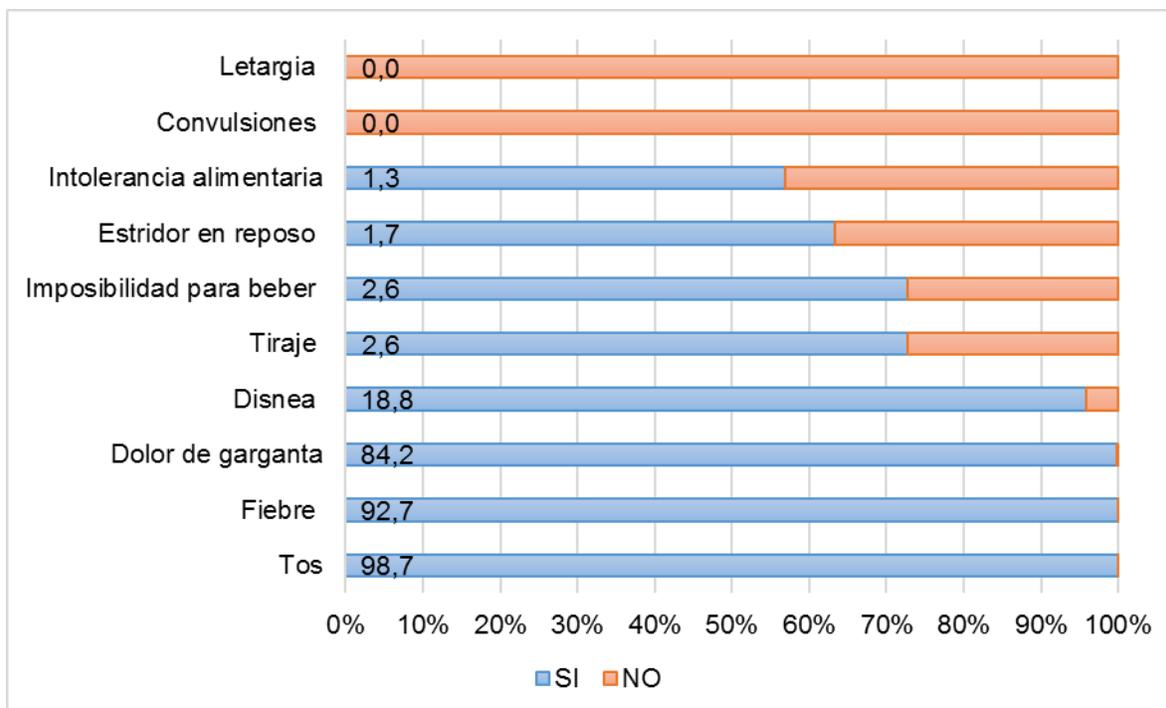


ETI: Enfermedad Tipo Influenza; IRAG: Infección Respiratoria Aguda Grave; IRAGI: IRAG Inusitada

Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica VIGEPES 2015 – 2017

Figura 2. Distribución de los días de toma de muestras para diagnóstico de virus influenza según tipo de vigilancia, El Salvador, 2015-2017.

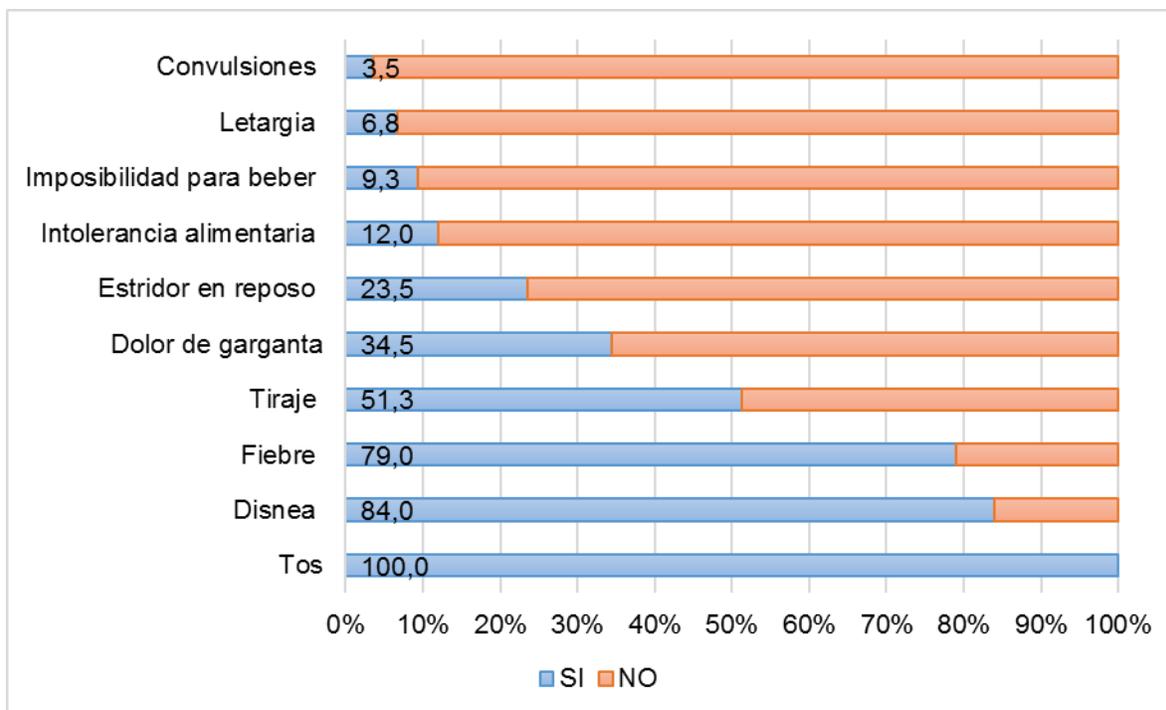
De los 2131 registros analizados entre los años 2015 y 2017 para la vigilancia de ETI, el 96,5% fueron válidos y el de 3,5% fueron registros no válidos para este estudio (se consideró como registro válido a aquel que tenía al menos una variable clínica y el resultado de laboratorio para virus influenza). De las características clínicas registradas en el sistema VIGEPES en los pacientes con sospecha de ETI, las más frecuentes fueron la tos, la fiebre y el dolor de garganta. (Figura 3)



Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica 2015 – 2017.

Figura 3. Características clínicas en pacientes con diagnóstico de laboratorio de virus influenza como parte de la vigilancia de ETI, El Salvador, 2015-2017.

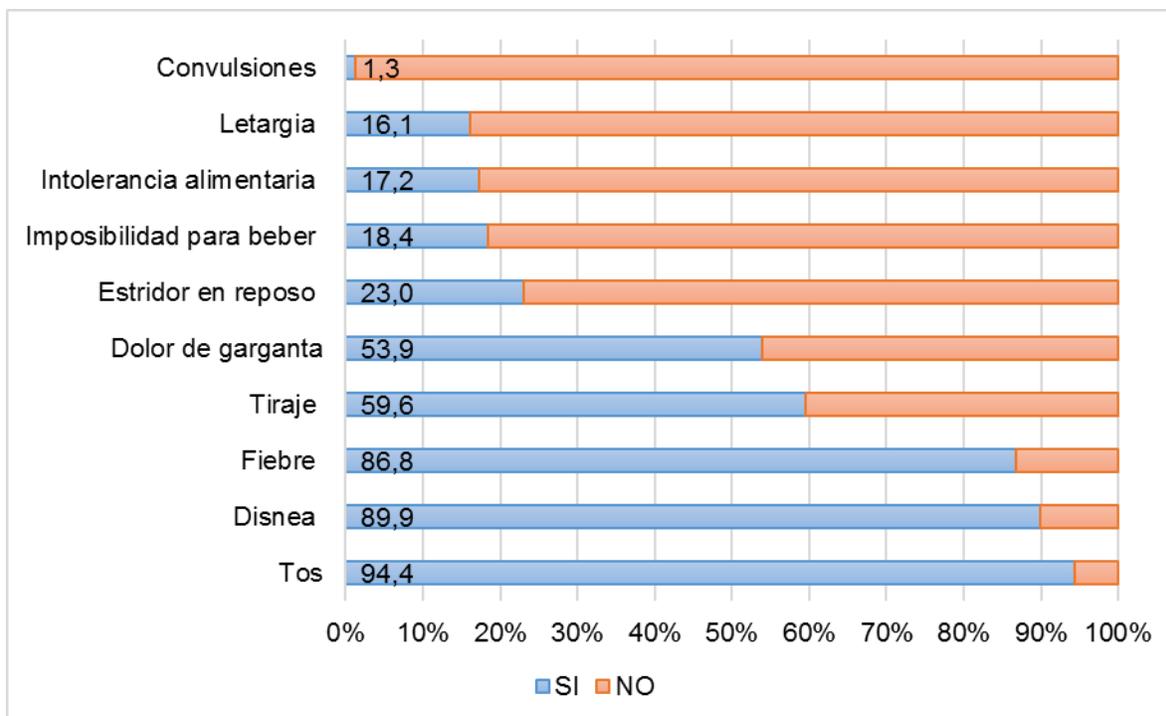
De los 2814 registros analizados entre los años 2015 y 2017 para la vigilancia de IRAG, el 95,4% fueron válidos y el de 4,6% fueron registros no válidos para este estudio. En cuanto a las características clínicas de los pacientes, la tos, la disnea, la fiebre y el tiraje respiratorio fueron las manifestaciones más frecuentes en los pacientes atendidos como parte de la vigilancia de IRAG (Figura 4).



Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica 2015 – 2017.

Figura 4. Características clínicas en pacientes con diagnóstico de laboratorio de influenza como parte de la vigilancia de IRAG, El Salvador, 2015-2017.

De los 781 registros analizados entre los años 2015 y 2017 para la vigilancia de las IRAGI, el 75,0% fueron válidos y el de 25,0% fueron registros no válidos para este estudio. Los principales síntomas y signos identificados en los pacientes bajo vigilancia de IRAGI fueron: tos, disnea y fiebre, seguido por tiraje y dolor de garganta. (Figura 5)



Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica 2015 – 2017.

Figura 5. Características clínicas en pacientes con diagnóstico de virus influenza en la vigilancia de IRAGI, El Salvador, 2015 - 2017.

El resultado del análisis univariado de las características clínicas, demográficas y día de toma de muestras en pacientes que consultaron los establecimientos para la vigilancia de ETI durante los años 2015 al 2017, reveló que el sexo masculino, el grupo de edad de 5 a 24 años, la fiebre, la tos y la toma de muestras nasofaríngeas entre los días primero y quinto después de la FIS, fueron estadísticamente significativos. En el caso de la vigilancia de IRAG, se encontraron diferencias estadísticas significativas en los pacientes pertenecientes a los grupos de edades de 25 a 49, 50 a 64 y ≥ 65 años, que tenían fiebre y dolor de garganta y aquellos a los que se les tomó las muestras nasofaríngeas del sexto al décimo día de FIS. Finalmente, para la vigilancia de IRAGI, las variables sexo femenino, los grupos de edades de 25 a 49 y ≥ 65 años, así como la fiebre y el dolor de garganta fueron estadísticamente significativos (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis univariado de las características clínicas, demográficas y día de toma de muestras en pacientes que consultaron los establecimientos de vigilancia de ETI, IRAG e IRAGI en El Salvador, 2015 al 2017.

Variables		ETI			IRAG			IRAGI		
		OR	(IC 95%)	p	OR	(IC 95%)	p	OR	(IC 95%)	p
Sexo	Masculino	1,408	(1,079 - 1,837)	0,012	0,808	(0,567 - 1,416)	0,239	0,574	(0,386 - 0,852)	0,006
	Femenino	0,710	(0,544 - 0,927)	0,012	1,238	(0,868 - 1,765)	0,239	1,743	(1,174 - 2,588)	0,006
Grupo de edad	0 - 4 años	0,692	(0,506 - 0,947)	0,022	0,302	(0,211 - 0,432)	0,000	0,327	(0,212 - 0,506)	0,000
	5 - 24 años	2,147	(1,643 - 2,807)	0,000	1,136	(0,643 - 2,008)	0,660	1,615	(0,962 - 2,711)	0,070
	25 - 49 años	0,720	(0,508 - 1,022)	0,066	3,545	(1,919 - 6,549)	0,000	2,117	(1,299 - 3,450)	0,003
	50 - 64 años	0,466	(0,256 - 0,848)	0,012	3,730	(2,016 - 6,904)	0,000	1,133	(0,574 - 2,237)	0,719
	≥ 65 años	0,466	(0,256 - 0,848)	0,012	2,663	(1,708 - 4,154)	0,000	1,646	(1,044 - 2,595)	0,032
Día de toma de muestras	1 - 5 días	1,857	(1,040 - 3,316)	0,036	0,399	(0,276 - 0,577)	0,000	1,045	(0,691 - 1,580)	0,835
	6 - 10 días	0,597	(0,327 - 1,093)	0,095	2,466	(1,686 - 3,608)	0,000	1,370	(0,885 - 2,119)	0,158
	≥10 días	0,271	(0,037 - 1,998)	0,200	1,688	(0,721 - 3,608)	0,228	0,348	(0,138 - 0,881)	0,026
Cuadro clínico	Fiebre	3,613	(2,179 - 5,991)	0,000	1,826	(1,166 - 2,860)	0,008	2,288	(1,207 - 4,334)	0,011
	Tos	4,932	(1,554 - 15,653)	0,007	-	-	-	1,276	(0,487 - 3,345)	0,62
	Dolor de garganta	1,145	(0,789 - 1,656)	0,481	2,365	(1,600 - 3,497)	0,000	3,744	(2,354 - 5,956)	0,000
	Disnea	0,938	(0,663 - 1,328)	0,720	0,729	(0,440 - 1,206)	0,218	1,074	(0,511 - 2,260)	0,85
	Tiraje	1,289	(0,583 - 3,089)	0,568	0,750	(0,519 - 1,084)	0,126	0,762	(0,481 - 1,209)	0,246
	Imposibilidad para beber	0,540	(0,233 - 1,250)	0,150	0,893	(0,474 - 1,682)	0,726	0,495	(0,279 - 0,878)	0,016
	Estridor en reposo	0,854	(0,301 - 2,417)	0,766	1,414	(0,915 - 2,185)	0,119	0,721	(0,423 - 1,231)	0,231
	Intolerancia alimentaria	1,081	(0,321 - 3,639)	0,900	1,191	(0,672 - 2,112)	0,549	0,544	(0,302 - 0,980)	0,043
	Convulsiones	0,000	(0,000 - 0,000)	0,000	2,650	(0,926 - 7,588)	0,069	0,559	(0,071 - 4,392)	0,580
	Letargia	0,000	(0,000 - 0,000)	0,000	0,707	(0,341 - 0,341)	1,467	0,288	(0,158 - 0,524)	0,000

ETI: Enfermedad Tipo Influenza; IRAG: Infección Respiratoria Aguda Grave; IRAGI: IRAG Inusitada; IC: Intervalo de Confianza

Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica VIGEPES 2015 – 2017.

El análisis multivariado para la vigilancia de ETI, en el bloque cero, indicó que el diagnóstico clínico realizado entre los años 2015-2017, obtuvo una probabilidad de acierto para los resultados negativos de 88,7% esto quiere decir, que, con las variables independientes del cuadro clínico para el diagnóstico de influenza, en el resultado de laboratorio solo se obtuvo el 11,3% de positividad a influenza. El R cuadrado de Negelkerke indicó que el modelo propuesto explica el 7,5% de la varianza de la variable dependiente (0,075). La significación estadística (chi cuadrado=3,647; $p=0,819$) de la Prueba Hosmer y Lemeshow entra en contradicción con los resultados encontrados hasta ahora indicando que si hay un buen ajuste al modelo, los valores teóricos son parecidos a los verdaderos (datos no mostrados).

Las variables incluidas en el modelo predictivo para la vigilancia de ETI se representan en la tabla 4. El análisis multivariado demostró que las variables que mostraron significancia estadística fueron: tos OR 4,960 (IC 95% 1,553-15,8470), $p = 0,007$, fiebre OR 3,373 (IC 95% 2,028-5,610), $p < 0,000$ y el grupo de edad de 5 a 24 años OR 1,843 (IC 95% 1,281-2,654), para una $p = 0,001$.

Tabla 4. Análisis multivariado de síntomas y signos, día de toma de muestras y características sociodemográficas de pacientes con y sin diagnóstico de infección por influenza confirmada por el laboratorio en la vigilancia de ETI, El Salvador, 2015-2017.

Variables		<i>p</i>	OR	IC (95%)	
				Inferior	Superior
Sexo	Femenino	0,055	0,757	0,569	1,006
Grupo de edad	0 - 4 años	0,904	0,975	0,643	1,477
	5 - 24 años	0,001	1,843	1,281	2,654
	50 - 64 años	0,286	0,698	0,361	1,351
Día de toma de muestra	1 - 5 días	0,088	1,737	0,921	3,278
Cuadro clínico	Fiebre	0,000	3,373	2,028	5,610
	Tos	0,007	4,960	1,553	15,847
	constante	0,000	0,005		

OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de Confianza

Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica VIGEPES 2015 – 2017.

En el análisis multivariado para la vigilancia IRAG, el bloque cero, indicó que el diagnóstico clínico realizado durante el año 2015 al 2017, obtuvo una probabilidad de acierto para los resultados negativos de 95,6%, teniendo las variables independientes con diagnóstico de influenza del cuadro clínico, en el resultado de laboratorio solo se obtendría el 4,4% de positividad a influenza. El R cuadrado de Neglekerke indica que el modelo propuesto explica el 9,5% de la varianza de la variable dependiente (0,095) La significación estadística (chi cuadrado=2,023; $p=0,918$) de la prueba Hosmer y Lemeshow entra en contradicción con los resultados encontrados hasta ahora indicando que si hay un buen ajuste al modelo, que los valores teóricos son parecidos a los verdaderos (datos no mostrados).

Las variables incluidas en el modelo predictivo para la vigilancia de IRAG se muestran en la tabla 5. El análisis multivariado demostró que las variables que mostraron significancia estadística fueron: las edades de 25-49 años OR 2,509 (IC al 95% 1,071-5,878), $p = 0,034$; 50-64 años OR 2,879(IC 95% 1,247-6,648), $p = 0,013$; más de 65 años OR 2,143 (IC 95% 1,071-4,288), $p = 0,031$; fiebre OR 1,736(IC 95% 1,100-2,740), $p = 0,018$ y dolor de garganta OR 1,601 (IC 95% 1,056-2,427), $p = 0,027$.

Tabla 5. Análisis multivariado de síntomas y signos, día de toma de muestras y grupos de edades de pacientes con y sin diagnóstico de infección por influenza confirmada por el laboratorio en la vigilancia de IRAG, El Salvador, 2015-2017.

Variables	<i>p</i>	OR	IC (95%)		
			Inferior	Superior	
Grupo de Edad	0 - 4 años	0,170	0,643	0,342	1,208
	25 - 49 años	0,034	2,509	1,071	5,878
	50 - 64 años	0,013	2,879	1,247	6,648
	≥ 65 años	0,031	2,143	1,071	4,288
Día de toma de muestras	1 - 5 días	0,113	0,490	0,202	1,184
	6 - 10 día	0,822	1,110	0,446	2,762
Cuadro clínico	Fiebre	0,018	1,736	1,100	2,740
	Dolor de garganta	0,027	1,601	1,056	2,427
	Constante	0,000	0,046		

Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica VIGEPES 2015 – 2017.

OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de Confianza

El análisis multivariado de la vigilancia IRAGI, indicó que el diagnóstico clínico realizado durante el año 2015 al 2017, obtuvo una probabilidad de acierto para los resultados negativos de 85,2% de las variables independientes del cuadro clínico en el resultado de laboratorio solo se obtuvo el 14,8% de positividad a influenza. El R cuadrado de Neglekerke indica que el modelo propuesto explica el 23,4% de la varianza de la variable dependiente (0,234) La significación estadística (chi cuadrado=8,416; $p=0,394$) de la prueba Hosmer y Lemeshow entra en contradicción con los resultados encontrados hasta ahora indicando que si hay un buen ajuste al modelo, que los valores teóricos son parecidos a los verdaderos. (datos no mostrados).

Las variables incluidas en el modelo predictivo para la vigilancia IRAGI se representan en la tabla 6. El análisis multivariado demostró que las variables que mostraron significancia estadística fueron: la fiebre OR 2,507 (IC al 95% 1,072-5,867), $p = 0,034$ y el dolor de garganta OR 2,459 (IC al 95 % 1,338-4,520), $p = 0,004$.

Tabla 6. Análisis multivariado de síntomas y signos, día de toma de muestras y características sociodemográficas de pacientes con y sin diagnóstico de infección por influenza confirmada por el laboratorio en la vigilancia de IRAGI, El Salvador, 2015-2017.

Variables		P	OR	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Sexo	Femenino	0,640	1,142	0,655	1,990
Grupo de edad	0 - 4 años	0,639	0,826	0,372	1,834
	25 - 49 años	0,889	0,939	0,385	2,286
	≥ 65 años	0,196	1,690	0,762	3,748
Día de toma de muestras	Más de 10 días	0,078	0,325	0,093	1,134
Cuadro clínico	Fiebre	0,034	2,507	1,072	5,867
	Dolor de garganta	0,004	2,459	1,338	4,520
	Imposibilidad para beber	0,411	0,700	0,299	1,639
	Intolerancia	0,835	1,097	0,458	2,630
	Letargia	0,001	0,240	0,105	0,547
	Uso de antibiótico	0,012	2,123	1,179	3,822
	Constante	0,000	0,065		

Fuente: Sistema de vigilancia epidemiológica VIGEPES 2015 – 2017.

DISCUSION

En la presente investigación se detecta una mayor sensibilidad y especificidad de la prueba de IFI en las muestras tomadas entre el 1 y 5 días posteriores a la FIS. En los pacientes con ETI, los mejores prescriptores de Influenza son las variables grupo de edad 5–24 años, fiebre y tos. Para las IRAG, los mejores predictores resultan los grupos de edades de 25-49 años, 50-64 años y ≥ 65 años, así como la fiebre y el dolor de garganta, mientras que para las IRAGI son la fiebre y el dolor de garganta.

En el actual estudio se evalúa el diagnóstico de virus influenza utilizando como soporte el sistema de Vigilancia Epidemiológico VIGEPES. Este sistema posee varias ventajas (21) y brinda las herramientas necesarias para la creación de bases de datos capaces de registrar los casos de enfermedades prevenibles, entre ellas la Influenza.

La evaluación del desempeño de las pruebas diagnósticas permite una estimación cuantitativa de la magnitud de errores que pueden cometerse, así como de aciertos en el diagnóstico de una enfermedad. La sensibilidad y la especificidad son indicadores estadísticos que evalúan la eficacia de una prueba diagnóstica y miden la discriminación diagnóstica de una prueba en relación a otra prueba considerada de referencia (38).

Las pruebas de laboratorio para virus influenza poseen características específicas de rendimiento diagnóstico. Los métodos moleculares suponen un perfil estratégico relevante para los estudios virológicos que consideran al cultivo viral como un método de referencia (29). Las pruebas de inmunofluorescencia tienen una sensibilidad entre 35-65%, que se considera de moderada a baja. Esto significa que la IFI pudiera dejar de captar entre un 35-65% de los casos positivos a influenza, en comparación con el estándar de oro, que son las pruebas moleculares (15,39).

En el presente estudio, el desempeño general de la IFI con relación a la prueba molecular puede considerarse bueno en términos de sensibilidad, especificidad diagnóstica, índice de Youden, RVP y RVN (38). Además el coeficiente de concordancia de Kappa obtenido es excelente (14). Estos parámetros corresponden a los registros seleccionados que tenían ambas pruebas realizadas, sin tomar en cuenta el día de toma de muestra a partir de la FIS. Este último factor es muy importante ya que la carga viral más elevada se encuentra en los primeros 5 días a partir de la FIS (36), por lo que un bajo rendimiento en la prueba inicial tiene un efecto negativo en la detección del virus, aun cuando el paciente tenga una alta carga viral. (37).

Al evaluar los parámetros de desempeño de la IFI con relación a los días en que se tomó la muestra respiratoria para el estudio virológico, hay un mejor rendimiento en las muestras tomadas en los primeros cinco días después de la FIS, con relación al obtenido en las muestras recuperadas entre el 6 y 10 días y después del 10 día. En la actual evaluación, la RT-PCR en tiempo real se realizó a las muestras que eran positivas por IFI, lo que resulta en un mayor número de muestras positivas por el método de referencia. Esto se denominó para este estudio “conveniencia del algoritmo” (Anexo 1), y generó un aumento de la sensibilidad y concordancia de la prueba IFI en los primeros cinco días del inicio de los síntomas. En consecuencia, la sensibilidad encontrada resulta mayor que la notificada en otros estudios (15, 29, 30) y la especificidad concuerda con la descripción de otros investigadores (15).

Durante el período que duró la investigación, 2015-2017, el sistema de vigilancia epidemiológica de El Salvador registra un porcentaje de positividad a virus influenza de 8,7%, similar al de un estudio llevado a cabo en la República Democrática del Congo en el 2015 (40), pero resulta más bajo que el registrado por *Shah y cols, en Illinois, EUA* (41) y por *Linlin Zhou y cols en Chengdu, China*. En este último reporte, el diagnóstico de influenza se realiza por tres pruebas de laboratorio (hemaglutinación, cultivo celular y RT-PCR en tiempo real) (34), a diferencia de nuestro estudio en el que el principal método diagnóstico empleado

fue la IFI, que exhibe una menor sensibilidad diagnóstica; en cambio, los métodos moleculares presentan una elevada sensibilidad y especificidad diagnóstica (15, 29, 30).

La positividad diagnóstica a virus influenza en pacientes bajo vigilancia de ETI e IRAGI es superior a la positividad general del estudio. Esto pudiera deberse a la naturaleza de los pacientes que se atienden en los establecimientos que vigilan las ETI; en estos casos, las muestras son tomadas generalmente entre el primero y quinto día después de la FIS. Como fue mencionado antes, este resultado pudiera ser atribuido a la “conveniencia del algoritmo, empleado, el cual disminuye su efecto cuando las muestras se toman del sexto al décimo día del inicio de los síntomas (Anexo 1). Por otro lado, la positividad diagnóstica encontrada en los pacientes bajo vigilancia de IRAG es más baja que la positividad general de la investigación. Estos pacientes manifiestan síntomas sugerentes de otras enfermedades infecciosas y no infecciosas, pero la evolución de la IRAG hace que sean atendidos en un hospital, lo que pudiera explicar la menor positividad a influenza (45). En estos casos, el algoritmo recomienda realizar ambas pruebas diagnósticas (IFI y RT-PCR en tiempo real), pero a diferencia de la vigilancia de ETI, el resultado de la prueba molecular no está sujeto al resultado positivo de la IFI. Similar explicación pudiera resultar válida para los pacientes a los que se les tomó muestras después del décimo día del inicio de los síntomas.

A diferencia de las epidemias de Influenza estacional que causan tasas de hospitalización más altas en población mayor de 65 años y los niños menores de cinco años (35, 36), la frecuencia más elevada de infección por influenza en este estudio correspondió al grupo de 5 a 24 años de forma general. Este resultado coincide con el reporte de *Wang y cols* (36) y de *Kavunga y cols* (40); el primero señala que la población más joven tiene una carga viral más alta que la población mayor de 65 años (36). Sin embargo, difiere del reporte de *Boibin y cols*, que manifiestan que los pacientes más afectados por influenza son los mayores de 65 años de edad (42). En cuanto al sexo, el mayor número de pacientes que consultan los establecimientos que vigilan ETI, IRAG e IRAGI eran masculinos,

pero no se observa variación en las tasas de positividad a influenza. Este resultado coincide con el reporte de Carrat y cols. en Francia 1999 (43), que señalan que la fiebre y la fatiga tienden a ser más severas en los hombres que en mujeres, de ahí que acudan a las instituciones de salud más rápidamente; además, explican que las mujeres generan mayor respuesta inmunitaria innata y adaptativa, lo cual acelera la eliminación viral (43).

Los signos y síntomas clínicos que predicen la influenza han sido estudiados por algunos autores, *Monto y cols.* realizan un análisis retrospectivo en 3,744 individuos para identificar el valor predictivo de cada síntoma en la enfermedad, concluyendo que la fiebre y la tos son los de mayor ayuda para la identificación ágil y oportuna de este padecimiento para poder intervenir en el curso clínico y evitar complicaciones que pudieran resultar fatales (44).

El análisis multivariado de las características clínicas, sociodemográficas y día de toma de muestras a partir del inicio de los síntomas en pacientes bajo vigilancia de ETI, demuestra que las variables predictoras de un diagnóstico positivo de influenza son la fiebre, tos y edad de 5 a 24 años. Estos resultados coinciden con lo notificado por *Shah y cols* (41) y por *Boivin G y cols.* (42), quienes señalan que los mejores predictores de la enfermedad influenza son la fiebre y la tos, independientemente de la edad del paciente. La literatura señala la existencia de otros síntomas predictores de influenza como rinorrea, mialgias, cefalea, escalofríos y malestar general (41,42,43), los cuales no fueron tenidos en cuenta en este estudio, pues no aparecen registrados en el sistema VIGEPES.

En el caso de la vigilancia de IRAG, el análisis multivariado ratifica que la fiebre, el dolor de garganta y las edades de 25-49 años, 50-64 años y > 65 años se asocian con el diagnóstico de influenza, lo cual coincide con lo reportado por *Woolpert y cols* (46) en cuanto a la edad de entre la edad de 25 a 49 años pero no para menores de 25 años y mayores de 50 años y difiere al igual que lo notificado por *Shah y cols.* (41) En cuanto al dolor de garganta, llama la atención que en el análisis multivariado la tos no estuvo asociada, siendo sustituida por el dolor de garganta. Esto pudiera deberse a que en casos graves el cuadro empeora y se

agregan otros síntomas; también a la posible existencia de otros virus respiratorios involucrados en la etiología de la IRAG (41, 42).

El análisis multivariado para la vigilancia de IRAGI, muestra que la fiebre y el dolor de garganta son marcadores predictores de influenza; sin embargo, la literatura señala que el dolor de garganta es un síntoma que se toma poco en cuenta en los pacientes inusitados, a diferencia de la tos, disnea y tiraje (45).

El presente estudio tiene varias limitaciones, la principal fue la conveniencia de algoritmo, que fue explicado. El número de muestras tomadas a pacientes que consultan los servicios de vigilancia después del décimo día de la FIS es escaso. En el caso del primer objetivo del estudio, por tratarse de una investigación retrospectiva, no se obtuvo un control en la toma, manejo y envío de las muestras hasta el momento del análisis por el laboratorio de referencia. Además, en el contexto de evaluación de los predictores clínicos, se observa que el sistema de vigilancia epidemiológico carece de información detallada por parte de los médicos que alimentan la ficha electrónica VIGEPES, en lo referente a los datos del cuadro clínico, por lo que se perdió el 23,9% de la información en los tres años que dura el estudio.

CONCLUSIONES

- La realización de la inmunofluorescencia indirecta en los primeros 5 días del inicio de los síntomas como prueba de pesquisa, limita la detección de casos de influenza.
- La fiebre, la tos y la edad de 5 a 24 años constituyen los principales predictores para la enfermedad tipo Influenza, lo que pudiera ayudar al médico a predecir la evolución de los pacientes con esta enfermedad.
- La sustitución de la tos por el dolor de garganta como predictor en la vigilancia de IRAG/IRAGI podría mejorar el diagnóstico de influenza.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere revisar y modificar el algoritmo de laboratorio para la vigilancia de influenza en El Salvador, que incluya la realización de pruebas moleculares desde el inicio de los síntomas para aumentar la positividad de las muestras a virus influenza.
- Se propone incluir otros síntomas clínicos como rumorea, mialgia, cefalea, escalofríos y malestar general en el sistema de vigilancia epidemiológica, para que puedan ser útiles en próximos estudios de caracterización clínica de la enfermedad.
- Realizar estudios más robustos que permitan valorar las definiciones de casos y su posible modificación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Aldana V RS, Coria L JJ, Bustos CE, Espinosa MLE, Karam BJ. Infecciones respiratorias agudas en menores de 5 años. *Práctica Médica Efectiva* [serie en Internet]. 2001 [citado 3 May 2009]; 3(7). Disponible en: <http://bvs.insp.mx/articulos/1/17/v3n7.pdf>
2. García Rosique RM. Factores de riesgo de morbilidad y mortalidad por infecciones respiratorias agudas en niños menores de 5 años. *Rev. Med. Electrón.* [Internet]. 2010 Jun [citado 2018 Ago 28] ; 32(3): . Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242010000300010&lng=es
3. Tempia S, Walaza S, Moyes J, Cohen AL, von Mollendorf C, McMorrow ML, *et al.* The effects of the attributable fraction and the duration of symptoms on burden estimates of influenza-associated respiratory illnesses in a high HIV prevalence setting, South Africa, 2013-2015. *Influenza and Other Respiratory Viruses.* 2018;12(3):360-73.
4. Imaz M, Eimann M, Poyard E, Savy V. Exceso de mortalidad asociada a influenza en Argentina: 1992-2002. *Rev Chil Infectol.* [Internet]. 2006 Dic [citado 2018 Ago 28] ; 23(4): 297-306. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182006000400002>
5. García-García J, Ramos C. La influenza, un problema vigente de salud pública. *Salud Pública de México* [Internet]. junio de 2006 [citado 22 de agosto de 2018];48(3). Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342006000300009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
6. Siciliani DD, Cabral G, Pingray V, Borda ME, Aranaz A, Miceli IP. Influenza: evolución a cuatro años de la pandemia: Hospital Nacional Profesor Alejandro Posadas, Argentina. *Medicina (B. Aires)* [Internet]. 2014 Jun

- [citado 2018 Ago 28]; 74(3): 189-197. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802014000300002&lng=es.
7. Zamorano, J., Budnik, I. Manifestaciones clínicas de la infección por virus influenza en niños inmunocompetentes. *Neumología Pediátrica*. [Internet]. 2009 [citado 29 de agosto de 2018];14. Disponible en: <http://www.neumologia-pediatria.cl/wp-content/uploads/2017/06/Manifestaciones.pdf>
 8. World Health Organization. Influenza virus infections in humans. July 2013. Consultado el 28/08/2013 Disponible en: http://www.who.int/influenza/GIP_InfluenzaVirusInfectionsHumans_Jul13.pdf
 9. World Health Organization. Influenza vaccines/Vaccins antigrippaux. *Weekly Epidemiological Record/Relevé épidémiologique hebdomadaire*, (2005). 80(33), 279-287. [Internet]. [citado 22 de agosto de 2018]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/232862/WER8033_279-287.PDF?sequence=1
 10. Harper SA, Bradley JS, Englund JA, File TM, Gravenstein S, Hayden FG, *et al*. Seasonal Influenza in Adults and Children—Diagnosis, Treatment, Chemoprophylaxis, and Institutional Outbreak Management: Clinical Practice Guidelines of the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2009;48(8):1003-32.
 11. WHO Global Influenza Programme: survey on capacities of national influenza centres, January-June 2002. [Internet]. [citado 22 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/232000>
 12. Crespo MP: El diagnóstico viral por el laboratorio: Clínica Fundación Valle del Lili, Cali. *Colombia Med* [Internet]. 2000; 31: 135-150 [citado 2018 Ago 28]. Disponible en: [50](http://sci-</div><div data-bbox=)

[hub.tw/http://colombiamedica.univalle.edu.co/index.php/comedica/article/view/166/168](http://colombiamedica.univalle.edu.co/index.php/comedica/article/view/166/168)

13. OPS/OMS El Salvador. Presentan avances en la vigilancia centinela de infecciones respiratorias en Centro América y República Dominicana [Internet]. Pan American Health Organization / World Health Organization. 2014 [citado 23 de agosto de 2018]. Disponible en: https://www.paho.org/els/index.php?option=com_content&view=article&id=921:presentan-avances-en-la-vigilancia-centinela-de-infecciones-respiratorias-en-ca-y-republica-dominicana&Itemid=291
14. World Health Organisation Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. Geneva: World Health Organization; 2011. 139 p. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44518/9789241548090_eng.pdf;jsessionid=2C2588FF7138C4CAABE63203C35D597C?sequence=1
15. Sánchez DCC. Baja sensibilidad de la prueba de inmunofluorescencia. Instituto Nacional de Salud Bol. [Internet]. 2009 [citado 27 de julio de 2018]; año 15 (7-8). Disponible en: http://www2.unavarra.es/gesadi/servicioBiblioteca/tutoriales/Citar_referencia_r_%28Vancouver%29.pdf
16. Grupo Técnico Interinstitucional del Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica (CONAVE). Lineamientos para la Vigilancia Epidemiológica de Influenza. México Enero 2012. 35 pp.
17. Ayora-Talavera G, Gongora-Biachi R.A, López-Martínez I, Moguel-Rodríguez W, Perez-Carrillo H, Vazquez-Zapata V, *et al.* Detection of human influenza virus in Yucatan, Mexico. *Revista de Investigación Clínica*, [Internet]. 2002 [citado 2018 agos 29] (2002) 54(5):410-414. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Guadalupe_Ayora-Talavera/publication/10900489_Detection_of_human_influenza_virus_in_Yu

[catan_Mexico/links/5859714208aeabd9a58b484c/Detection-of-human-influenza-virus-in-Yucatan-Mexico.pdf](#)

18. OMS/OPS, Actualización Regional: Influenza y Otros virus respiratorios, 31 de Julio 2018[Internet]. [citado 3 de agosto de 2018]; Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=45733&lang=es
19. World Health Organization . CDC protocol of RT-PCR for influenza A(H1N1). Version 2009: Swine Influenza. Obtenido de: <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/realtimeptcr/en/>
20. Piñón A, Acosta B, Valdés O, Arencibia A, Savón CE, González G, *et al.* Estrategia cubana de caracterización molecular del virus influenza A/H1N1pdm. Rev Cubana Med Trop 2011; 63(1):21-9.
21. MINSAL: Lineamientos para la vigilancia centinela de la enfermedad tipo influenza (ETI). Septiembre 2015. 15 pp.
22. Organización Mundial de la Salud. Revisión de la actividad global de influenza. Octubre 2016 - octubre de 2017. Registro epidemiológico semanal. 15 diciembre de 2017, AÑO 92 °.761-780
23. Vargas MA. Influenza A H1N1 de origen porcino: métodos diagnósticos | Vargas-Córdoba | Revista de la Facultad de Medicina. [Internet]. 2010 [citado 25 de septiembre de 2018];58(1). Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/14360/15156>
24. Sociedad Brasileira de Neumología e Tisiología. Neumonías Adquiridas en comunidades en adultos Inmunocompetentes. Asociación Médica Brasileña y Consejo Federal de Medicina. Protejo directrices. Agosto de 2001.

25. Organización Panamericana de la Salud. Guía operativa para la vigilancia nacional de la infección respiratoria aguda grave (IRAG). Washington DC. Septiembre 2014.
26. Belshe RB. The need for quadrivalent vaccine against seasonal influenza. *Vaccine*. sept 2010;28:D45-53.
27. World Health Organization. WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans - revised. Disponible en: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521.pdf
28. Pita Fernández S, Pértegas Díaz S. Pruebas diagnósticas: Sensibilidad y especificidad. *Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (España) Cad Aten Primaria* 2003; 10: 120-124. Disponible en: https://www.fisterra.com/mbe/investiga/pruebas_diagnosticas/pruebas_diagnosticas.asp
29. Ben M'hadheb M, Harrabi M, Souii A, Jrad-Battikh N, Gharbi J. Multiplex RT-PCR and Indirect Immunofluorescence Assays for Detection and Subtyping of Human Influenza Virus in Tunisia. *Current Microbiology*. 2015;70(3):324-9.
30. Prades Y. Comparación de las técnicas de inmunofluorescencia, RT-PCR multiplex en tiempo real y Luminex en la detección de virus respiratorios en adultos con neumonía adquirida en la comunidad [Internet]. Santiago, Chile: Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; 2014 [citado: 2019, marzo]. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/138499>
31. Reina J, Padilla E, Alonso F, Ruiz de Gopegui E, Munar M, Mari M. Simultaneous and Differential Detection of Influenza A and B Virus Antigens

- from Respiratory Samples. *Journal of Clinical Microbiology*. ~~4 de septiembre de 2002~~;40(9):3515-7.
32. Reina J, Munar M, Blanco I. Evaluation of a direct immunofluorescence assay, dot-blot enzyme immunoassay, and Shell vial culture in the diagnosis of lower respiratory tract infections caused by influenza A virus. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*; 1996, 25:143-145.
33. Cheung M, Lieberman JM. Influenza: update on strategies for management. *Contemp Pediatr*. 2002;19:82-94.
34. Zhou L, Yang H, Kuang Y, Li T, Xu J, Li S, *et al*. Temporal patterns of influenza A subtypes and B lineages across age in a subtropical city, during pre-pandemic, pandemic, and post-pandemic seasons. *BMC Infectious Diseases* [Internet]. diciembre de 2019 [citado 10 de marzo de 2019];19(1). Disponible en: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-019-3689-9>
35. Tempia S, Walaza S, Moyes J, Cohen AL, von Mollendorf C, McMorrow ML, *et al*. The effects of the attributable fraction and the duration of symptoms on burden estimates of influenza-associated respiratory illnesses in a high HIV prevalence setting, South Africa, 2013-2015. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2018;12(3):360-73.
36. Wang B, Russell ML, Fonseca K, Earn DJD, Horsman G, Van Caesele P, *et al*. Predictors of influenza A molecular viral shedding in Hutterite communities. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2017;11(3):254-62.
37. Rabalais G, Stout G, Waldeyer S: Rapid detection of influenza-B virus in respiratory secretions by immunofluorescence during an epidemic. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 1992;15:35-37

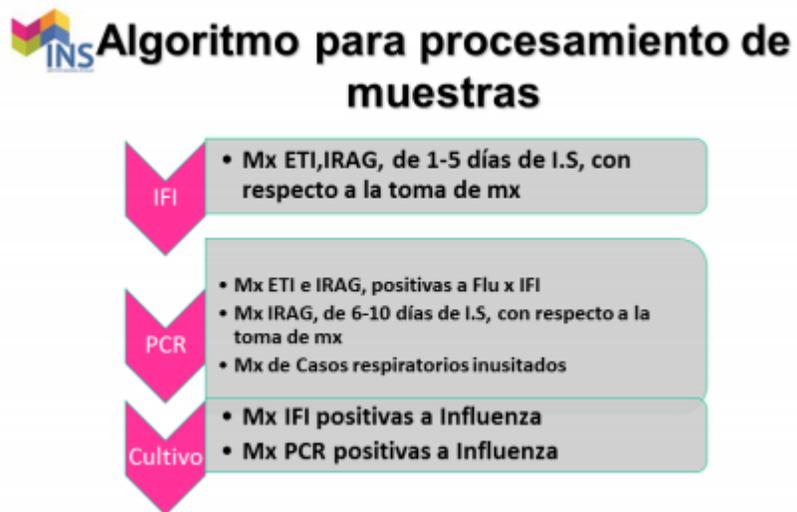
38. Yerushalmy J. Statistical problems in assessing methods of medical diagnosis, with special reference to X-ray techniques. *Pub Health Rep* 1947; 62: 1432-49.
39. Reina, J., Saurina, J., Fernandez-Baca, V., & Munar. Evaluation of an indirect immunofluorescence assay and two cell lines in the detection of Influenza B virus in nasopharyngeal samples. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 1998, 17(7):532-534.
40. Kavunga-Membo H, Nkwembe E, Simulundu E, Karhemere S, Babakazo P, Many L, et al. Epidemiology of circulating human influenza viruses from the Democratic Republic of Congo, 2015.. *PLOS ONE*. 2018;13(9):e0203995.
41. Shah SC, Rumoro DP, Hallock MM, Trenholme GM, Gibbs GS, Silva JC, et al. Clinical Predictors for Laboratory-Confirmed Influenza Infections: Exploring Case Definitions for Influenza-Like Illness. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2015;36(03):241-8.
42. Boivin G, Hardy I, Tellier G, Maziade J. Predicting influenza infections during epidemics with use of a clinical case definition. *Clin Infect Dis*. 2000;31:1166-1169.
43. Carrat F, Tachet A, Rouzioux C, Housset B, Valleron A. Evaluation of Clinical Case Definitions of Influenza: Detailed Investigation of Patients During the 1995-1996 Epidemic in France. *Clinical Infectious Diseases*. 1999;28(2):283-90.
44. Monto A, Gravestain S, Elliot M, Colopy M, Scheweinle J. Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Arch Intern Med* 2000; 160(21): 3243-7.

45. González-Vélez AE, Díaz-Agero-Pérez C, Robustillo-Rodela A, Cornejo-Gutiérrez AM, Pita-López MJ, Oliva-Iñiguez L, et al. Factores asociados a ingreso en unidad de cuidados intensivos en pacientes hospitalizados por Influenza pandémica A/H1N1 2009. *Medicina Intensiva*. noviembre de 2011;35(8):463-9.

46. Woolpert T, Brodine S, Lemus H, Waalen J, Blair P, Faix D. Determination of clinical and demographic predictors of laboratory-confirmed influenza with subtype analysis. *BMC Infect Dis*. 7 de junio de 2012;12:129.

ANEXOS

Anexo 1



Mx = muestra, ETI = Enfermedad tipo influenza, IRAG = Infección respiratoria aguda grave, IS = Inicio de síntomas

Algoritmo para procesamiento de muestras respiratorias en la red de laboratorios de vigilancia de influenza en El Salvador. IFI – realizada en los laboratorios departamentales y en el LNR. PCR y Cultivo – realizados en el LNR. Fuente: Centro Nacional de Influenza – Laboratorio Nacional de Referencia – Instituto Nacional de Salud, El Salvador