

Curso de Capacitación

“ Doce (12) puntos de verificación para la vigilancia de enfermedades en organismos acuáticos: una nueva aproximación para asistir equipos multidisciplinarios en países en desarrollo ”



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

ICA
Instituto Colombiano Agropecuario



SESIÓN 4. Lista de chequeo 6 Evaluación de Pruebas Diagnósticas

Fernando Mardones
femardones@uc.cl

Lista de chequeo 6. Pruebas diagnósticas

Rango de técnicas para diagnosticar enfermedades infecciosas y no infecciosas es amplio.

- Historia
- Comportamiento
- Signos clínicos
- Exámen físico
- Necropsia
- Biología molecular
- Microbiología
- Serología
- Epidemiología
- Respuesta a terapia
- Producción
- Economía
- Bioquímica
- Fisiología
- Imagenología
- Pruebas de transmisión



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Lista de chequeo 6.

Pruebas diagnósticas

Cualquier proceso o aparato destinado a detectar, o cuantificar un signo o sintoma, sustancia, cambio en un tejido o respuesta del cuerpo.

Técnicas utilizadas a nivel individual y/o poblacional

Las pruebas no son perfectas, es decir, sus resultados no siempre son correctos.

Uso: Obtener informaciones adicionales sobre el estado de salud o exposición de un individuo o una población.

- Estudios epidemiológicos
- Pruebas de tamizaje (screening de reproductores)
- Diagnóstico clínicos



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Tamizaje versus diagnóstico

Tamizaje (*screening*): Comienza con animales aparentemente sanos. Es usado para la identificación presuntiva de una enfermedad no reconocida en poblaciones aparentemente sanas.

- En el tamizaje, la prueba debe tener alta sensibilidad y precisión, fácil de llevar a cabo y, si el número de animales es grande, de bajo costo.
- El tamizaje no tiene como objetivo ser diagnóstico: animales positivos son evaluados en forma detallada para establecer un diagnóstico.

Tamizaje versus diagnóstico

Pruebas de diagnóstico: Comienza con animales mostrando signos clínicos consistentes con la enfermedad en cuestión.

- Requieren una alta especificidad para minimizar la probabilidad que los animales sean incorrectamente diagnosticados con la enfermedad.

Comparación de tamizaje y pruebas diagnósticas

Tamizaje (screening)	Pruebas diagnóstico
Se aplica a población sana	Aplicado a individuos enfermos
Busca enfermedades no reconocidas	Diferencia entre enfermos probables
Alta sensibilidad	Alta especificidad
Gran número de animales evaluados	Número pequeño de pruebas
Deseable bajo costo	Costo no es tan relevante

Exactitud de los procedimientos de pruebas

La exactitud de una prueba se puede medir como:

1. Validez
2. Precisión

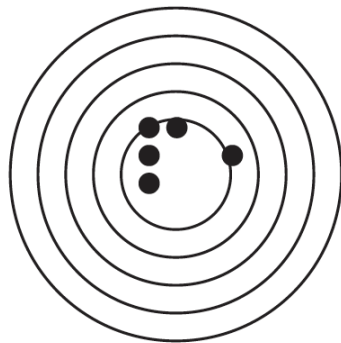
Una prueba exacta es tanto válida como precisa, es decir, el resultado es repetible (una medida de precisión) y entrega una medida verdadera del valor que se mide (sensitivo y específico, medidas de validez).

Exactitud de los procedimientos de pruebas

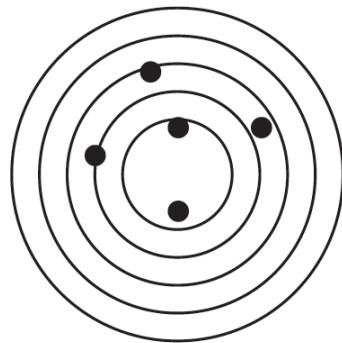
Precisión: Falta de error aleatorio (alta repetibilidad)

Validez: Falta de error sistemático o sesgo (alta sensibilidad y especificidad)

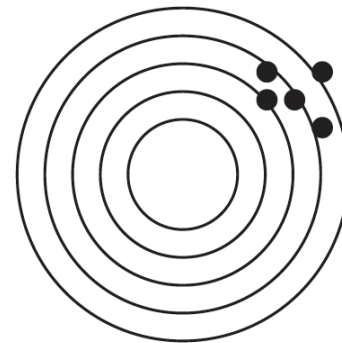
Una prueba puede ser precisa sin ser válida y viceversa.



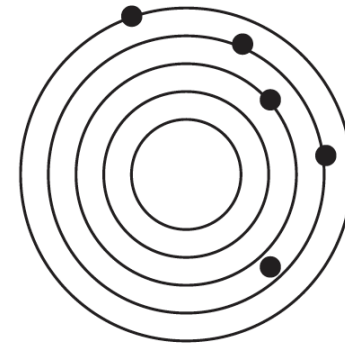
Válido y
preciso



Válido pero
impreciso



Inválido pero
preciso



Inválido e
impreciso



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Precisión

- Pruebas que se realizan con materiales idénticos bajo condiciones similares entreguen resultados ***similares pero no idénticos***.
- Variación: error aleatorio inevitable inherente a cada procedimiento (no podemos controlar todos los factores).
 - Uniformidad del material de la prueba
 - Transporte y almacenamiento del material de la prueba
 - Reagentes
 - Equipo y su calibración
 - Operador(a)
 - Condiciones ambientales: temperatura, humedad, luz, contaminación del aire.

Precisión

Término general que se usa para describir la variabilidad entre la repetición de pruebas en aparentemente materiales idénticos.

Una prueba con alto nivel de precisión tiene baja variabilidad y viceversa.



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Medidas para la evaluación de la precisión

Repetibilidad:

Prueba realizada con la misma muestra bajo condiciones constantes en un laboratorio por un operador utilizando el mismo equipo en un periodo corto de tiempo.

Por ejemplo, una placa y muestras replicadas en el ELISA

Medidas para la evaluación de la precisión

Reproducibilidad:

Habilidad de una prueba de entregar resultados consistentes en pruebas repetidas con la misma muestra, bajo diferentes condiciones de laboratorios, tiempos y operadores.



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura

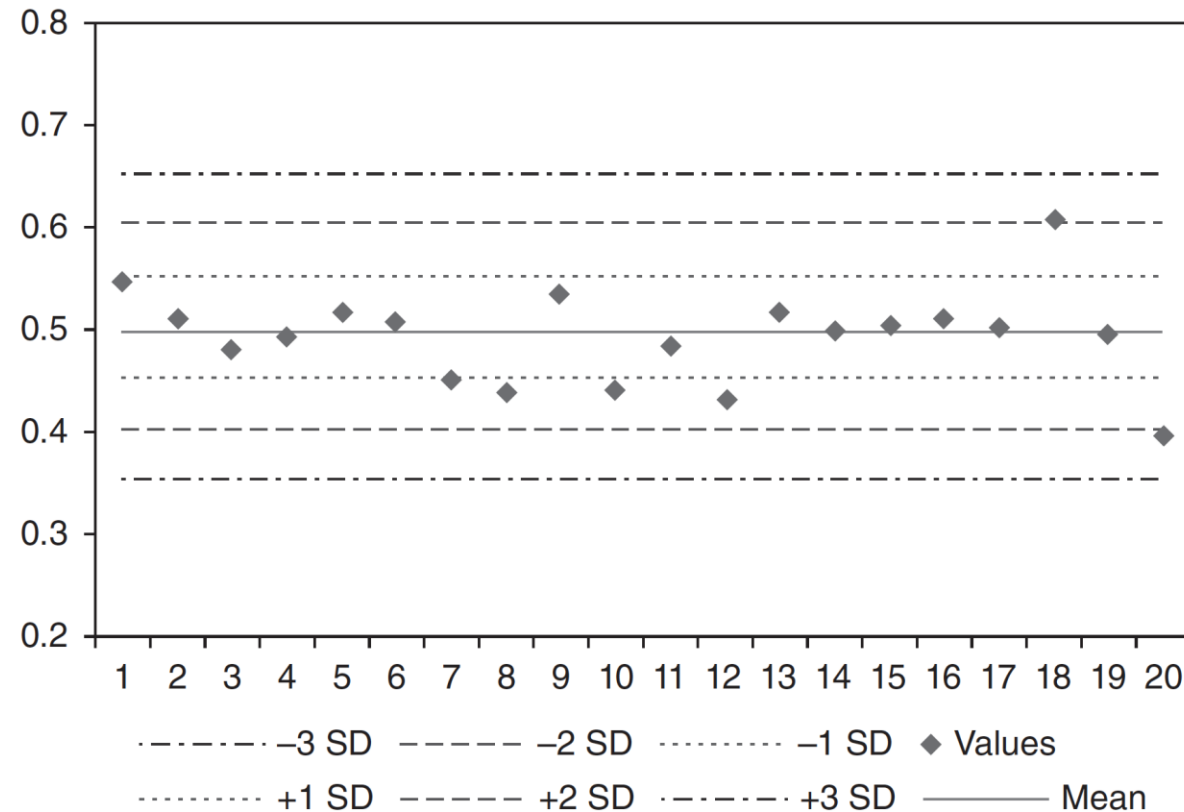


Medidas para la evaluación de la precisión

- Repetibilidad y reproducibilidad son dos **extremos**.
- Miden el **mínimo** (repetibilidad) y **máximo** (reproducibilidad) de variabilidad en resultados debido al error aleatorio.
- Reproducibilidad entrega la **robustez** de la prueba (cuan bien determina bajo diferentes condiciones).
- **Escalas continuas**: desviación estándar del error (muestras duplicadas), coeficiente de variación y línea de identidad (regresión lineal).
- Visualmente con gráficas estadísticas de control.
- **Escalas cualitativas**: el estadístico de kappa para determinar concordancia.

Gráfica estadística de control para 20 muestras repetidas

Repetibilidad en el tiempo (muestras control pos./neg.)



Medidas de validez de la prueba

Validez determina la cantidad de sesgo en el resultados de una prueba. Se cuantifica según la **sensibilidad** y **especificidad** diagnóstica.

Sensibilidad (Se): Proporción de animales con la enfermedad (o infección) correctamente clasificados por la prueba como infectados o positivos (i.e., proporción de verdaderos positivos).

Distinto de la sensibilidad analítica del laboratorio – habilidad de un método analítico de detectar cantidades muy pequeñas de un material (e.g., anticuerpo o antígeno).

Factores que afectan la Se en un ensayo de anticuerpos

- Número de animales en estudio
- Método utilizado para determinar enfermedad o estado de infección
- Etapa de la infección
- Punto de corte seleccionado
- Tipo de conjugado anti-especie
- Inhibidores no específicos
- Anticuerpos incompletos
- Producción de supresores de inmunoglobulinas

Medidas de exactitud

Especificidad (Sp): Proporción de animales sin la enfermedad (o infección) correctamente clasificados por la prueba como no infectados o negativos (i.e., proporción de verdaderos negativos).

*Distinto de la especificidad analítica del laboratorio – habilidad de un método de reaccionar **solo** ante un material en particular presente y no reaccionar ante la presencia de otros compuestos.*



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Factores que afectan la Sp en un ensayo de anticuerpos

- Número de animales en estudio
- Método utilizado para determinar enfermedad o estado de infección
- Punto de corte seleccionado
- Tipo de conjugado anti-especie
- Inhibidores no específicos
- Reacciones cruzadas de grupos
- Aglutininas inespecíficas

Estimación de Se y Sp

Resultado Prueba	Estado Natural de Enfermedad		Total
	Enfermo (D+)	No Enfermo (D-)	
Positivo (+)	a	b	$a + b = T+$
Negativo (-)	c	d	$c + d = T-$
Total	$a + c = D+$	$b + d = D-$	$n = a + b + c + d$

a = verdaderos positivos; b = falsos positivos; c = falsos negativos; d = verdaderos negativos



Estimación de Se y Sp

Características de la prueba

$$\text{Sensibilidad (Se)} = \frac{a}{a+c}$$

$$\text{Especificidad (Sp)} = \frac{d}{b+d}$$

Probabilidades de infección

$$\text{Probabilidad de tener la enfermedad (Prevalencia)} = \frac{a+c}{n}$$

$$\text{Probabilidad de no tener la enfermedad (1 - Prevalencia)} = \frac{b+d}{n}$$



Ejemplo TiLV

Resultado PCR	Estado Verdadero de TiLV		Total
	Enfermo (D+)	No Enfermo (D-)	
Positivo (+)	33	2	35
Negativo (-)	4	141	145
Total	37	143	180

Sensibilidad (Se) = $33/37 = 89.2\%$

Especificidad (Sp) = $141/143 = 98.6\%$



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Prevalencias

- **Prevalencia Verdadera (PV):** proporción de animales realmente infectados en la población
- **Prevalencia Aparente (PA):** proporción de animales positivos en la prueba

- Prevalencia verdadera = $37/180 = 20.6\%$
- Prevalencia aparente = $35/180 = 19.4\%$



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Prevalencias

$$PV = \frac{PA + Sp - 1}{Se + Sp - 1} =$$

$$\frac{0.194 + 0.984 - 1}{0.892 + 0.984 - 1} =$$

$$\frac{0.178}{0.876} = 0.203 = 20.3\%$$



WinEpi (www.winepi.net)

Reflexiones sobre el COVID-19 de un epidemiólogo veterinario

Win
Epi

Working in Epidemiology

Español



English

Ignacio de Blas. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza ©2006

Inicio

Muestreo

Diagnóstico

Medición de enfermedad

Estimación de riesgo

Estadística básica

Diagnóstico

Concordancia entre pruebas

Evaluación de prueba

Estimación de valores predictivos

Combinación de pruebas

[Inicio]



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

WinEpi (www.winepi.net)



Diagnóstico: Evaluación de una prueba diagnóstica (1)

Las pruebas diagnósticas se desarrollan para detectar una enfermedad subclínica o para reemplazar otra técnica muy laboriosa o cara, por lo tanto una buena prueba diagnóstica debería tener una validez alta lo que significa que los porcentajes de resultados falsos positivos y falsos negativos deberían ser limitados. La validez se expresa en función de la Sensibilidad y la Especificidad, pero para determinarlas es necesaria una segunda prueba, llamada prueba de oro o estándar con una validez estimada del 100% aproximadamente.

Así pues la evaluación de la primera prueba se puede realizar fácilmente usando una tabla de contingencia de 2x2 entradas, a partir de la cual también se pueden calcular otros parámetros como el valor predictivo de un resultado positivo/negativo de la prueba (es decir, el porcentaje de animales positivamente/negativamente diagnosticados que realmente están infectados/sanos) y la prevalencia aparente (el número de animales positivos o enfermos dividido por el número total de animales diagnosticados). Otros parámetros de interés para evaluar una prueba diagnóstica son la J de Youden y su intervalo de confianza y la fiabilidad o eficiencia de un test.

También pueden establecerse los límites de confianza para todos esos estadísticos usando una aproximación normal al error estándar para proporciones, y teniendo en cuenta el nivel de confianza deseado.

Para realizar los cálculos correspondientes a este módulo necesitaremos los siguientes datos:

- **NC:** el nivel de confianza deseado (normalmente se establece como 95%).
- **A:** número de verdaderos positivos.
- **B:** número de falsos positivos.
- **C:** número de falsos negativos.
- **D:** número de verdaderos negativos.

Antes de evaluar una prueba diagnóstica debe indicar el tipo de datos del que dispone:

Nivel de confianza :	<input type="text" value="expresado como porcentaje (%)"/>
Prueba evaluada :	<input type="text" value="En filas"/> <input type="text" value="Positivos - Negativos"/>
Prueba de oro :	<input type="text" value="En columnas"/> <input type="text" value="Enfermos - Sanos"/>
Número de verdaderos positivos :	-
Número de falsos positivos :	-
Número de falsos negativos :	-
Número de verdaderos negativos :	-
Resultados :	<input type="text" value="expresados como porcentajes (%)"/>

Seguir



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

WinEpi (www.winepi.net)

Diagnóstico: Evaluación de una prueba diagnóstica (3)

Datos

El objetivo es evaluar la fiabilidad de una prueba diagnóstica:

Nivel de confianza % :		95%	
		Prueba de oro	
		Enfermos	Sanos
Prueba evaluada	Positivos	33	2
	Negativos	4	141

Resultados

La prueba diagnóstica evaluada presenta una sensibilidad de 89.2% y una especificidad de 98.6% .

En esta situación de prevalencia, un resultado positivo tiene una probabilidad de 94.3% de ser realmente un individuo enfermo, mientras que un resultado negativo tiene una probabilidad de 97.2% de ser realmente un individuo sano.

Además en la población estudiada se ha observado una prevalencia real del 20.6% , aunque la prueba diagnóstica evaluada muestra una prevalencia aparente del 19.4%.

Sensibilidad :	89.2%	(79.2%, 99.2%)
Especificidad :	98.6%	(96.7%, 100.5%)
Valor Predictivo Positivo :	94.3%	(86.6%, 102.0%)
Valor Predictivo Negativo :	97.2%	(94.6%, 99.9%)
Prevalencia real :	20.6%	(14.7%, 26.5%)
Prevalencia aparente :	19.4%	(13.7%, 25.2%)
J de Youden :	87.8%	(77.6%, 98.0%)
Fiabilidad :	96.7%	(94.0%, 99.3%)



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Interpretación de resultados a nivel animal individual

Valores Predictivos

- Se y Sp son características importantes de una prueba que nos ayudan a comprender que tan buenas son.
- Sin embargo, ambas dependen del estado de infección del animal (algo que no sabemos cuando usamos la prueba).
- Cuando interpretamos el resultado de la prueba, estamos interesados en cuanto podemos confiar en el resultado de la prueba.
- Es un resultado positivo indicativo que un animal está infectado?
- Es un resultado negativo indicativo de un animal no infectado?

Interpretación de resultados a nivel animal individual

Valores Predictivos

- Los **Valores Predictivos (VP)** son probabilidades condicionales que responden esas preguntas:
- Cuál es la probabilidad que un animal con prueba +, esté realmente infectado? - Valor Predictivo Positivo (VPP).
- Cuál es la probabilidad que un animal con prueba -, no esté realmente infectado? - Valor Predictivo Negativo (VPN).

Valores predictivos

- **VPP** es la probabilidad que un resultado positivo de un animal sea verdaderamente infectado.
- **VPN** es la probabilidad que un resultado negativo de un animal sea verdaderamente no infectado.



Ejemplo TiLV

Resultado PCR	Estado Verdadero de TiLV		Total
	Enfermo (D+)	No Enfermo (D-)	
Positivo (+)	33	2	35
Negativo (-)	4	141	145
Total	37	143	180

$$\text{VPP} = 33/35 = 94.3\%$$

$$\text{VPN} = 141/145 = 97.2\%$$



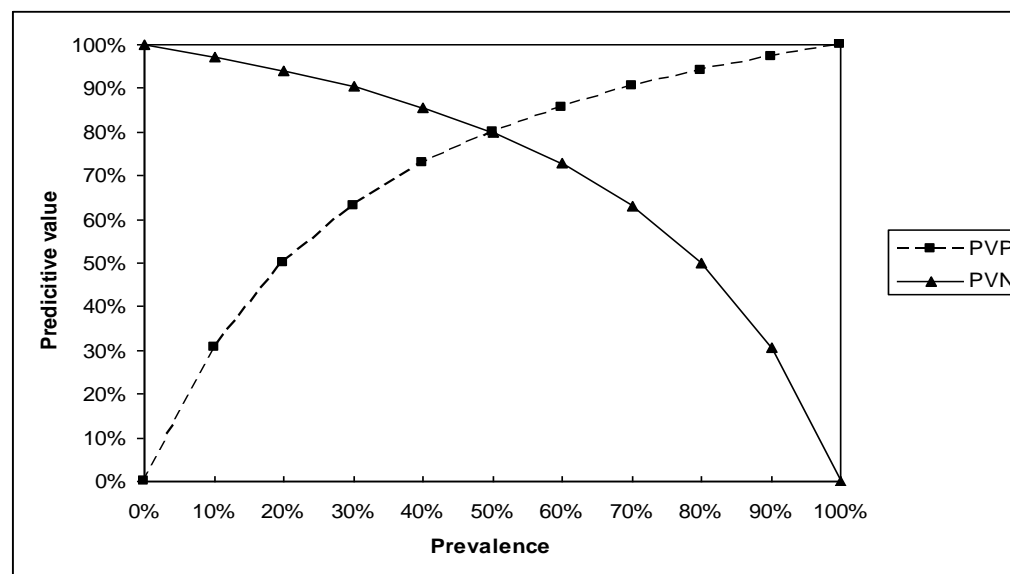
Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Valores predictivos y prevalencia

- Valores predictivos dependen de la prevalencia de infección en la población.
- Cuando la prevalencia aumenta el VPP crece y el VPN decrece.
- Cuando la prevalencia disminuye el VPN crece y el VPP decrece.



Valores predictivos en dos poblaciones con distintas prevalencias

- 2 poblaciones: 1% y 90% de prevalencia
- Probadas con la misma prueba (Se=Sp=90%)

		<u>Población 1</u>		
		Infectado		
		Si	No	
PCR	Positivo	9	99	108
	Negativo	1	891	892
		10	990	1000

		<u>Población 2</u>		
		Infectado		
		Si	No	
PCR	Positivo	810	10	820
	Negativo	90	90	180
		900	100	1000

Valores predictivos en dos poblaciones con distintas prevalencias

		<u>Población 1</u>		
		Infectado		
		Si	No	
PCR	Positivo	9	99	108
	Negativo	1	891	892
		10	990	1000

- Población 1
 $VPP = 9/108 = 8\%$
 $VPN = 891/892 = 99\%$

		<u>Población 2</u>		
		Infectado		
		Si	No	
PCR	Positivo	810	10	820
	Negativo	90	90	180
		900	100	1000

- Población 2
 $VPP = 810/820 = 99\%$
 $VPN = 90/180 = 50\%$

Interpretación de resultados a nivel animal individual

Valores Predictivos

$$VPP = \frac{P \times Se}{(P \times Se) + (1 - P) \times (1 - Sp)}$$

$$VPN = \frac{(1 - P) \times Sp}{((1 - P) \times Sp) + (P \times (1 - Se))}$$

Se = Sensibilidad; **Sp** = Especificidad y **P** = probabilidad de enfermedad previo a la prueba (estimador de la prevalencia verdadera de la población)



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Instituto Colombiano Agropecuario

Factores que afectan los valores predictivos

- Sabemos que los VPs dependen de la prevalencia y características de Se y Sp de la prueba.
- Cuando la enfermedad está en una región a una prevalencia muy baja, el VPP será bajo y la mayoría de los positivos serán **falsos positivos** (a menos que la Sp sea cercana al 100%).



Factores que afectan los valores predictivos

- Se = 99% y Sp = 95% y prevalencia 1%.
- El VPP = 17%, es decir, más del 80% de los resultados positivos serán **falsos positivos!**
- La Sp tiene mayor influencia que la Se en el VPP.
- La Se tiene mayor influencia en la Sp en el VPN.

Estrategias para aumentar el VPs

Aumentar VPP

- Testear grupos de alto riesgo – aquellos con signos clínicos que peces normales.
- Utilizar un valor de corte que entregue una mayor Sp., o utilice otra prueba con una mayor Sp que la prueba original.
- Utilizar pruebas en series múltiples

Aumentar VPN

- Utilizar un valor de corte que entregue una mayor Se., o utilice otra prueba con una mayor Se que la prueba original.
- Utilizar pruebas en paralelo.

Consideraciones para el uso de pruebas

- Objetivo de su uso
- Se y Sp
- Costo
- Impacto y costo de los falso positivos/negativos
- Conocer la situación epidemiológica



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Curso de Capacitación

“ Doce (12) puntos de verificación para la vigilancia de enfermedades en organismos acuáticos: una nueva aproximación para asistir equipos multidisciplinarios en países en desarrollo ”



Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

ICA
Instituto Colombiano Agropecuario



SESIÓN 4. Lista de chequeo 6 Evaluación de Pruebas Diagnósticas

Fernando Mardones
femardones@uc.cl