

PRUEBAS DIAGNOSTICAS: PRINCIPIOS Y METODOS PARA SU EVALUACION E INTERPRETACION

Emilio A. León; Sergio J. Duffy

Instituto de Patobiología, CICVyA – INTA, cc77, 1712 Castelar
eleon@cnia.inta.gov.ar; sduffy@cnia.inta.gov.ar

La determinación de un diagnóstico es una de las acciones de mayor relevancia en las ciencias biomédicas. Hacerlo implica el conocimiento de numerosos aspectos relativos a la salud y a la enfermedad. Es de trascendencia tanto a nivel individual como poblacional. Con el avance de la ciencia y de la tecnología se han desarrollado numerosos métodos complementarios de apoyo para el diagnóstico. Genéricamente se los denomina prueba diagnóstica.

Una prueba diagnóstica (PD) es un procedimiento destinado a detectar alguna característica que permita inferir la presencia o ausencia de un evento en un individuo. El procedimiento puede ser un examen clínico, un examen por medio de equipos o aparatos, un análisis de laboratorio, etc. El evento puede ser una enfermedad, una infección, la presencia de residuos químicos u hormonales, etc.

El resultado de una PD puede ser de diferente tipo: a- nominal: aislamiento positivo o negativo, tipo de agente infeccioso, etc.; b- ordinal: estado corporal, etc.; c- continuo: recuento de glóbulos rojos, título de anticuerpos, concentración de glucosa, etc. Independientemente del tipo de resultado, el mismo es finalmente expresado de manera dicotómica: positivo o negativo. Por lo tanto, existen cuatro resultados posibles, dependiendo de la PD y del estado del individuo: verdadero positivo, falso positivo, verdadero negativo y falso negativo (*Cuadro 1*).

Cuadro 1: Distribución de los posibles resultados de una prueba diagnóstica

	Evento		Total	
	Si	No		
Prueba diagnóstica	Positivo	<i>Verdadero positivo</i> (a)	<i>Falso positivo</i> (b)	<i>Total de positivos</i> (a + b)
	Negativo	<i>Falso negativo</i> (c)	<i>Verdadero negativo</i> (d)	<i>Total de negativos</i> (c + d)
Total	<i>Total con evento</i> (a + c)	<i>Total sin evento</i> (b + d)	a + b + c + d	

CAPACIDAD DISCRIMINATORIA

La capacidad discriminatoria de una PD es la habilidad para clasificar correctamente a los individuos según presenten el evento o no. Depende de: a- la PD en sí misma; b- variabilidad de los individuos que presentan el evento y c- variabilidad de los individuos libres del evento. Es evaluada mediante el cálculo de la Sensibilidad y la Especificidad (1, 2, 3, 4 y 5).

Sensibilidad (Se): es la capacidad de una PD para identificar como positivo a un individuo que presenta el evento. Se calcula a partir de un grupo de individuos que presentan el evento, a los cuales se les aplica la PD. La fórmula es la siguiente:

$$Se = \frac{\text{verdaderos positivos (a)}}{\text{verdaderos positivos (a) + falsos negativos (c)}}$$

Especificidad (Es): es la capacidad de una PD para identificar como negativo a un individuo libre del evento. Se calcula a partir de un grupo de individuos libres del evento, a los cuales se les aplica la PD. La fórmula es la siguiente:

$$Es = \frac{\text{verdaderos negativos (d)}}{\text{verdaderos negativos (d) + falsos positivos (b)}}$$

Ambas medidas son proporciones, por lo tanto toman valores comprendidos entre 0 y 1. Por lo general se expresan como porcentaje. Son características propias de las PDs, o sea que no son afectadas por la prevalencia del evento en la población (este punto es objeto de serias controversias entre autores).

Para la estimación de estas características es necesario contar con muestras de individuos pertenecientes a dos grupos, uno que presente el evento de interés y otro libre del mismo. La correcta identificación de estos individuos se basa en el uso de un método de referencia.

Método de referencia: en teoría es una PD única o una combinación de PDs que determina sin error y en forma concluyente si un individuo presenta o no el evento. Dado que los métodos con exactitud perfecta no existen, en la práctica el método de referencia es la PD o combinación de PDs más confiable que se disponga.

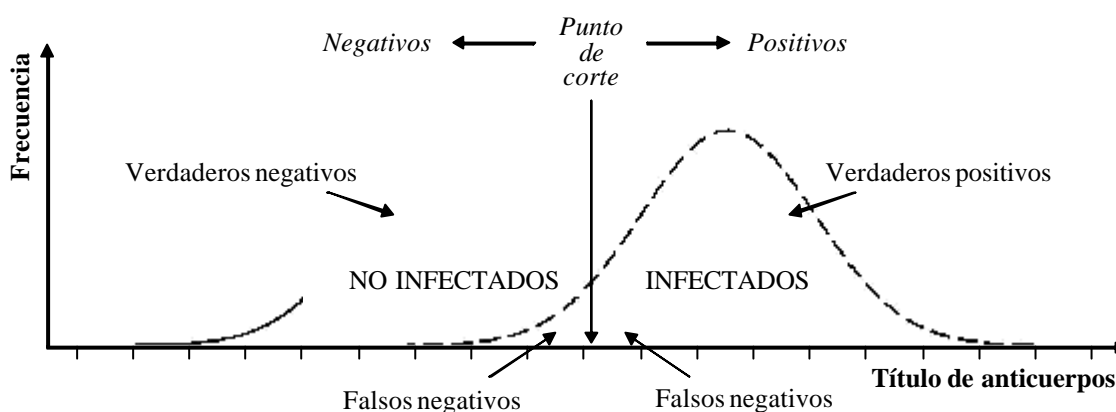
La evaluación de las PDs presenta algunos puntos críticos, entre los cuales el más relevante es contar con un método de referencia adecuado. Recientemente se han desarrollado técnicas estadísticas que permiten, en algunos casos, evaluar PDs en ausencia de un método de referencia (6 y 7). Otro punto crítico de importancia es la determinación del nivel de precisión que se desea obtener en la estimación de la Se y la Es. La cantidad de muestras necesarias es función de dicha precisión, además del nivel de confianza y los valores esperados de Se y Es. Generalmente el número de muestras requerido es alto, lo que hace que la evaluación de PDs sea un proceso oneroso y a veces con cierto grado de dificultad.

RELACION ENTRE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

Cuando una PD produce un resultado ordinal o continuo se fija un punto de corte para definir si el mismo es positivo o negativo. En estos casos la Se y la Es pueden ser

aumentadas o disminuidas modificando el punto de corte. Sin embargo, debido a la relación inversa existente entre ambas características, un incremento en la Se estará asociado con una disminución de la Es, y viceversa. En la *Figura 1* se presenta la distribución de dos grupos de individuos, infectados y no infectados, en función de su título de anticuerpos séricos. El punto de corte, correspondiente a un determinado título, indica el valor a partir del cual un resultado se considera positivo. En este caso, disminuir el valor de dicho título (o desplazar el punto de corte hacia la izquierda), implicaría detectar mayor cantidad de individuos infectados, o sea incrementar la Se de la PD. Pero al mismo tiempo se estaría aumentando la frecuencia de resultados falsos positivos, o sea, se perdería Es.

Figura 1: Distribución de dos grupos de individuos, infectados y no infectados, en función del título de anticuerpos. La línea de corte indica que los individuos con título superior al correspondiente serán considerados como positivos.



La elección del punto de corte más adecuado depende de la prevalencia del evento en estudio, del propósito para el cual se utilizará la PD y de las consecuencias asociadas a los resultados incorrectos. Por ejemplo, para el diagnóstico de enfermedades zoonóticas, sería conveniente el uso de una PD de alta Se, para minimizar el riesgo de que un animal que presenta el evento no sea detectado. Por el contrario, en los casos en que se implementa el sacrificio de animales positivos y el pago de la correspondiente indemnización, es de importancia reducir los resultados falsos positivos, por lo cual estaría indicado el uso de una PD de alta Es.

VALORES PREDICTIVOS

La estimación de la Se y la Es de una PD normalmente es realizada por profesionales involucrados en el desarrollo y validación de PDs. El conocimiento de estos valores es importante para la correcta interpretación de los resultados de las PDs por parte de los usuarios. En la práctica el verdadero estatus de un individuo es inferido a partir de dichos resultados. Esto genera al usuario dos preguntas cruciales: ¿cuál es la probabilidad que un individuo positivo a la PD presente el evento? y ¿cuál es la probabilidad que un individuo negativo a la PD esté libre del evento? El cálculo de los valores predictivos positivo y negativo ayuda al esclarecimiento de ambas cuestiones (1, 2, 3, 4 y 5).

Valor predictivo positivo (VPP): es la probabilidad que un individuo positivo a una PD realmente presente el evento. Se calcula a partir de individuos positivos a la PD, en los cuales se verifica si realmente el evento está presente.

$$VPP = \frac{\text{verdaderos positivos (a)}}{\text{verdaderos positivos (a)} + \text{falsos positivos (b)}}$$

Valor predictivo negativo (VPN): es la probabilidad que un individuo negativo a una PD sea realmente libre del evento. Se calcula a partir de individuos negativos a la PD, en los que se verifica si realmente el evento está ausente.

$$VPN = \frac{\text{verdaderos negativos (d)}}{\text{verdaderos negativos (d)} + \text{falsos negativos (c)}}$$

Ambos valores son afectados por la Se y la Es de la PD, pero también por la prevalencia del evento en la población. Por lo tanto, los valores predictivos de una PD son válidos sólo en la población en que fueron estimados, y no son extensivos a otras poblaciones.

PREVALENCIA VERDADERA Y APARENTE

La prevalencia verdadera es la proporción de individuos que presentan un evento en la población en riesgo en un momento determinado. Se la estima a partir de muestreos representativos de la población (1, 2, 3, 4 y 5).

La prevalencia aparente es la proporción de los individuos estudiados que resultaron positivos a la PD.

Por ejemplo, la prevalencia verdadera de ovinos infectados por *Brucella ovis* en un rebaño es la proporción de los ovinos presentes en un momento determinado que han sido infectados por dicho agente. En la práctica es un valor desconocido. La prevalencia aparente sería la proporción de los ovinos analizados mediante una PD, en este caso serológica, en los cuales se detecta la presencia de anticuerpos contra el agente.

A partir de la prevalencia aparente, conociendo los valores de Se y Es de la PD utilizada, es posible estimar la prevalencia verdadera, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Prevalencia verdadera} = \frac{\text{Prevalencia aparente} + \text{Especificidad} - 1}{\text{Sensibilidad} + \text{Especificidad} - 1}$$

La prevalencia verdadera es la suma de los verdaderos positivos más los falsos negativos, mientras que la prevalencia aparente es la suma de los verdaderos positivos más los falsos positivos. La diferencia entre ambas es debida a los errores de la PD. Con una PD perfecta (Se = Es = 1) ambos valores de prevalencia serían iguales.

Cuando en una población la prevalencia es baja, la probabilidad de obtener resultados falsos positivos aumenta. Por lo tanto la prevalencia aparente sobreestimaré a la verdadera prevalencia. Lo opuesto ocurre cuando la prevalencia es muy elevada.

PRUEBAS COMBINADAS

Debido a que las PDs no son perfectas (Se y $Es < 1$) en la práctica es común el uso de más de una PD para confirmar un diagnóstico. En estos casos, las mismas pueden combinarse de dos maneras: a- en serie y b- en paralelo. La interpretación de los resultados depende de la secuencia con que fueron utilizadas y de la manera en que los resultados son integrados (8, 9, 10 y 11).

Pruebas en paralelo: son dos o más PDs que se realizan en cada muestra analizada. Un individuo se considera positivo cuando al menos una de las PDs realizadas es positiva. En otras palabras, para que un individuo sea considerado negativo debe reaccionar de manera negativa a todas las PDs realizadas.

El efecto de utilizar PDs en paralelo es un incremento en la Se de la estrategia diagnóstica y, por lo tanto, un aumento del VPN. Al mismo tiempo disminuye la Es y el VPP. Conociendo los valores de Se y Es de las PDs individuales es posible calcular dichos valores para la estrategia en paralelo, a partir de las siguientes fórmulas:

$$Se_{Paralelo} = 1 - (1 - Se_A) \times (1 - Se_B)$$

$$Es_{Paralelo} = Es_A \times Es_B$$

Donde:

Se_A y Se_B = sensibilidad de la PD A y B respectivamente

Es_A y Es_B = especificidad de la PD A y B respectivamente

Un ejemplo del uso de PDs combinadas en paralelo son los controles que se llevan a cabo durante la importación de animales vivos. Se efectúan repetidos controles clínicos durante el período de cuarentena, a la vez que se implementan distintas pruebas serológicas. En esos casos, es extremadamente importante contar con procedimientos diagnósticos de alta Se , para detectar individuos portadores de agentes etiológicos de enfermedades zoonóticas y/o exóticas.

Pruebas en serie: son dos o más PDs aplicadas en forma consecutiva, en donde sólo las muestras que resultan positivas a una PD son procesadas por la prueba siguiente. Un individuo es considerado como positivo cuando reacciona de manera positiva a todas las PDs realizadas.

El efecto que se logra con el uso de PDs combinadas en serie es el aumento de la Es de la estrategia diagnóstica y del VPP. Simultáneamente se observa una disminución de la Se y del VPN. Para el cálculo de los valores de Se y Es de la estrategia en serie deben conocerse los valores de Se y Es de las PDs individuales. Estos cálculos se basan en las siguientes fórmulas:

$$Se_{Serie} = Se_1 \times Se_2$$

$$Es_{Serie} = 1 - (1 - Es_1) \times (1 - Es_2)$$

Donde:

Se_1 y Se_2 = sensibilidad de la PD utilizada en primer y segundo orden, respectivamente

Es_1 y Es_2 = especificidad de la PD utilizada en primer y segundo orden, respectivamente

El número de individuos identificados como positivos o negativos es independiente del orden en que se apliquen las PDs. En la mayoría de los casos es conveniente utilizar la prueba más sencilla, más económica o menos riesgosa en primer lugar. En los casos en que las PDs son de características similares es aconsejable utilizar en primer lugar la de mayor Es, dado que de esta manera el número total de pruebas a procesar será menor. Ejemplo del uso de pruebas combinadas en serie son las campañas de control de brucelosis bovina para detectar animales infectados, en las cuales se realizan análisis serológicos de todos los bovinos de un establecimiento. En una primera instancia los sueros se procesan con una PD tamiz, de bajo costo, sencilla y rápida de implementar, como ser aglutinación en placa con antígeno bufferado (BPA), y a las muestras con resultado positivo se las procesa en una segunda etapa con una PD confirmatoria de alta Es, operativamente más compleja y cara que la anterior, como por ejemplo la fijación de complemento. Un resultado se considera positivo sólo cuando la muestra reacciona de manera positiva a las dos PDs. Este procedimiento garantiza una alta especificidad de los resultados.

COMENTARIO FINAL

Si bien con el avance tecnológico las PDs han mejorado significativamente su capacidad discriminadora, debe tenerse presente que son pruebas complementarias para el diagnóstico, y por lo tanto nunca reemplazan el criterio y buen juicio del profesional.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Martin, W.S.; Meek, A.H.; Willeberg, P. En: *Veterinary Epidemiology, principles and methods*. Iowa State University Press, Ames. 1987; 48-76
2. Noordhuizen, J.P.; Frankena, K.; van der Hoofd, C.M. y col. En: *Application of quantitative methods in veterinary epidemiology*. Wageningen Pers, Wageningen. 1997; 63-97
3. Toma, B.; Dufour, B.; Sanaa, M. y col. En: *Applied Veterinary Epidemiology and the control of disease in populations*. AEEMA, Maisons-Alfort. 1999; 39-86
4. Thrusfield, M. En: *Veterinary epidemiology*. 2da Ed. Blackwell Science Ltd, Oxford. 1995; 266-285
5. Giesecke, J. En: *Modern infectious disease epidemiology*. Arnold, London. 1994; 66-77
6. Gardner, I.A.; Greiner, M. Validation and application of diagnostic tests used in Veterinary epidemiologic studies. *Preventive Veterinary Medicine - Special Issue*. 2000; 45:1-2
7. Gardner, I.A.; Greiner, M.; Georgiadis, M. Advanced methods in diagnostic test evaluation and interpretation. *Notas del curso pre - 9° Simposio Internacional de la Sociedad de Epidemiología y Economía Veterinaria (ISVEE)*, Colorado, USA. 2000
8. Kramer, M.S. En: *Clinical epidemiology and biostatistics, a primer for clinical investigators and decision-makers*. Springer-Verlag, New York. 1988; 201-219
9. Smith, R.D. En: *Veterinary clinical epidemiology, a problem-oriented approach*. 2da Ed. CRC Press, Boca Raton. 1995; 31-70
10. Fletcher, R.H.; Fletcher, S.W.; Wagner, E.H. En: *Epidemiología clínica*, 2da Ed. Ediciones Consulta, Barcelona. 1989; 41-73
11. Riegelman, R.K.; Hirsch, R.P. En: *Studing a study and testing a test, how to read the medical literature*. Little, Brown and Company, Boston. 1989; 151-163