

**Resultados Preliminares del
Proyecto: “Estudio de nuevas
pruebas de laboratorio diagnósticas
de brucelosis”**

CDC/CENAPRECE/InDRE

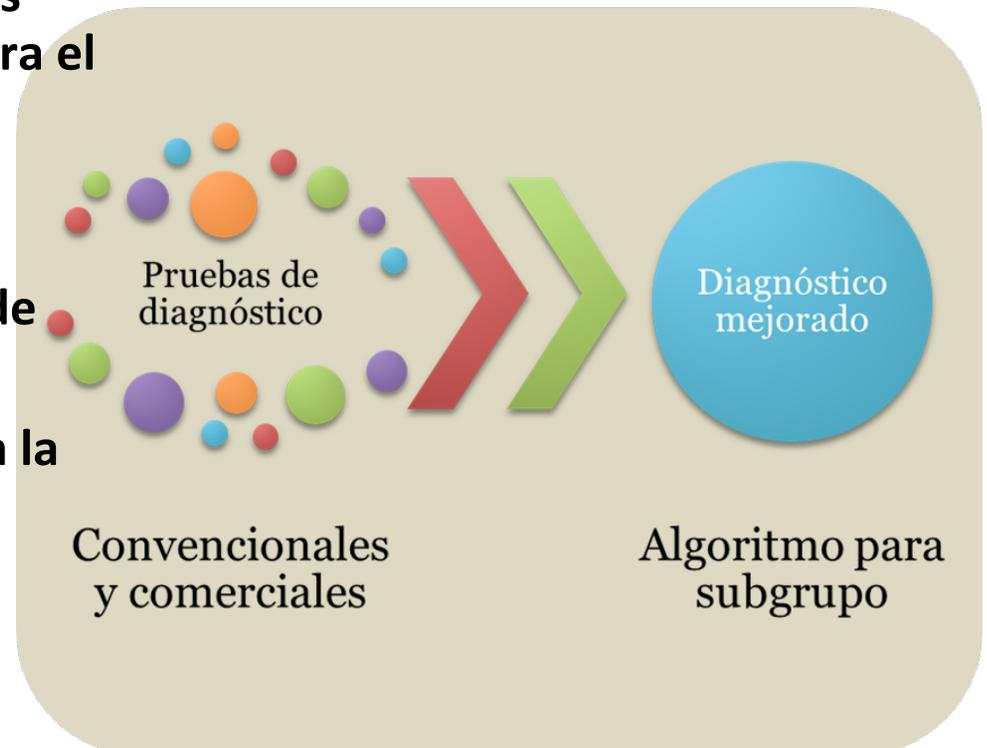
Dra. Elsa Villarino, 18 de Agosto, 2016

Hipótesis de Estudio

- Las pruebas diagnósticas comerciales tienen una sensibilidad (ser positivas en pacientes con brucelosis) comparable a las pruebas convencionales
- Las pruebas diagnósticas comerciales tienen una utilidad en el monitoreo de la respuesta al tratamiento comparable a la de las pruebas convencionales
- Las pruebas diagnósticas comerciales son comparables a las convencionales en su utilidad de diferenciar casos de brucelosis crónica
- La costo-efectividad de las pruebas comerciales es comparable a la de las pruebas convencionales

- **La recolección de muestras fue de Noviembre, 2014- a Junio 2016**
- Para este estudio se recolectaron muestras de suero de pacientes con sospecha de padecer brucelosis, y sin antecedentes previos de la enfermedad
- La toma de muestras empezó con la basal (pretratamiento), e incluía las muestras seriadas que la normatividad indica para el seguimiento de los pacientes con brucelosis
- Participaron los SESA y los LESP/labs locales de NL y MICH, en la búsqueda de pacientes y el manejo de las muestras
- El InDRE fue el laboratorio central para la realización de todas las pruebas de laboratorio (convencionales y nuevas)

Información general del proyecto



Pruebas Comerciales/No Convencionales para el Diagnóstico en México

Todas son basadas en la medición de anticuerpos

- Pruebas de Ac. de Aglutinación
BrucellaCAPT (Vircell)
- Pruebas de Ac. (rápidas, por inmunoensayo – prueba de flujo lateral)
Test-it Brucella IgM (LifeAssay)
Test-it Brucella IgG (LifeAssay)
- Pruebas de Ac. (prueba inmunoenzimática – ELISA)
Brucella-ELISA IgG (Vircell)
Brucella-ELISA IgM (Vircell)

Diagnóstico Convencional de Brucelosis en el InDRE

ALGORITMO SEROLÓGICO = La Prueba de Tamizaje/Screening Rosa de Bengala (RB) reactiva es seguido de

→ SAT \geq 1:80 → 2ME \geq 1:20

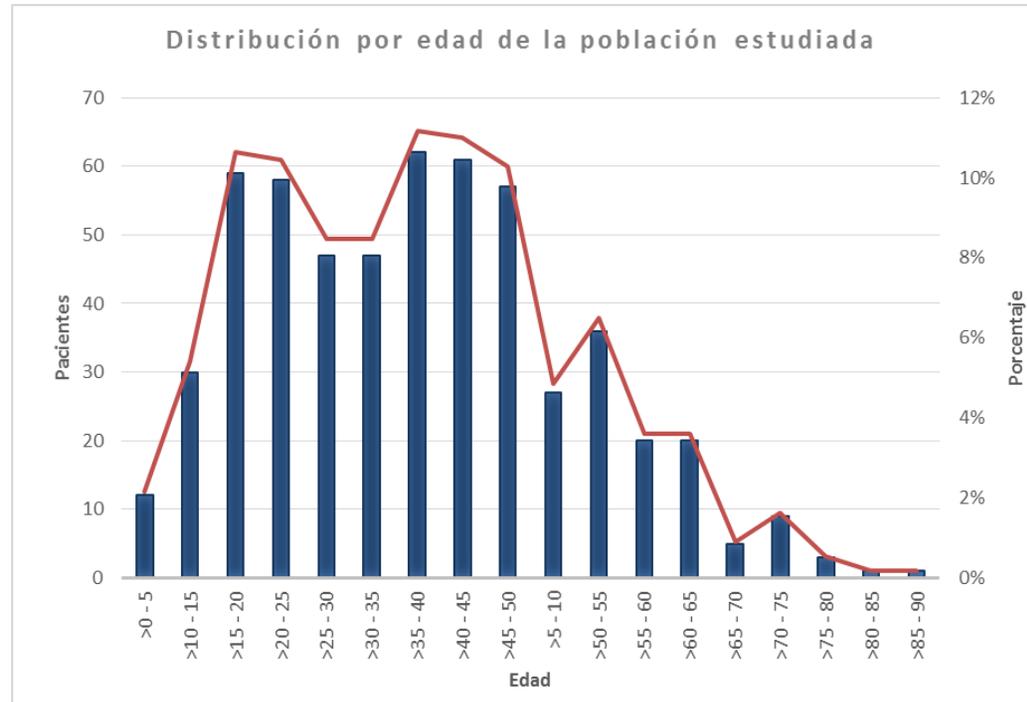
Ambas pruebas empleadas en el diagnostico de la brucelosis son pruebas de anticuerpos de aglutinación (SAT y 2ME)

Procedimiento



1. Se ingresaron pacientes de unidades de primer nivel en Michoacán y Nuevo León
2. Se registraron pacientes y se procesaron muestras de suero
3. Se hizo seguimiento de pacientes tratados en las unidades correspondientes
4. Se elaboraron bases de datos por cada componente
5. Se integró una base de datos única
6. Los resultados compartidos hoy son PRELIMINARES (el análisis continúa) y basados en la primer muestra de suero (pretratamiento) solamente

Población estudiada N=473



	Michoacán (n=206)		Nuevo León (n=267)	
Edad (años)				
percentila- 75	44.0		49.0	
mediana	34.0		36.5	
percentila-25	20.0		20.0	
Sexo				
femenino	145 (70%)		151 (56%)	
masculino	61 (30%)		116 (43%)	
Número de muestras				
	2- 56	4- 22	2- 24	4 - 7
	3- 38	5- 4	3- 13	5 - 1

Diagnóstico por pruebas convencionales

Interpretación de los resultados en las pruebas confirmatorias:

		PRUEBA		INTERPRETACIÓN
		SAT	2-ME	
POSIBLES RESULTADOS	a	POSITIVO	NEGATIVO	Infección en etapa inicial
	b	POSITIVO	POSITIVO	Infección de curso prolongado
	c	NEGATIVO	POSITIVO	Revisar técnica Repetir estudio
	d	NEGATIVO	NEGATIVO	Repetir estudio, si se mantiene (-) se descarta brucelosis

Distribución de las muestras de suero procesadas de acuerdo a su origen y resultado en el algoritmo serológico del Laboratorio del Brucelosis del InDRE. 2016.

Estado	Conclusión diagnóstica			Total
	Negativo	Positivo	Indeterminado	
Michoacán	123	53	30	206
Procedencia	59.7%	25.7%	14.6%	100.0%
Reactividad	76.9%	23.9%	33.0%	43.6%
Nuevo León	37	169	61	267
Procedencia	13.9%	63.3%	22.8%	100.0%
Reactividad	23.1%	76.1%	67.0%	56.4%
TOTAL	160	222	91	473
Procedencia	33.8%	46.9%	19.2%	100.0%
Reactividad	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

RB reactivo y \rightarrow SAT \geq 1:80 y/o \rightarrow 2ME \geq 1:20 = positivo

Clasificación clínica de la población estudiada

Prueba	Posibles resultados			
	a	b	c	d
Aglutinación estándar en microplaca -SAT	+	+	-	-
Aglutinación con 2-mercaptoetanol - 2ME	-	+	+	-
	Infección en etapa inicial	Infección de curso prolongado	Revisar técnica. Repetir estudio	Repetir estudio, si se mantiene negativo (-) se descarta brucelosis

Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA2-2012. Para la prevención y control de la brucelosis en el ser humano

Prueba de tamizaje RB+

Clasificación clínica	Agudos	Crónicos	Total
Patrón de reactividad	a	b	
n=	34	188	222
%	15.3	84.7	100

Relación a:c

1 : 5.5

Frecuencia de síntomas según serorreactividad

		Fiebre	Cefálea	Escalofrío	Mialgias	Artralgias	Astenia	Vómito	Diaforesis	Anorexia	Pérdida de peso	Náusea	Mareo	Adinamia	Diarrea	Dolor lumbar
Michoacán	(-) 123	47 (38%)	84 (68%)	22 (18%)	56 (45%)	76 (62%)	37 (30%)	8 (6%)	5 (4%)	12 (10%)	2 (2%)	29 (23%)	15 (12%)	18 (15%)	3 (2%)	21 (17%)
	(+) 53	39 (73%)	43 (81%)	19 (36%)	22 (41%)	31 (58%)	17 (32%)	3 (6%)	8 (15%)	10 (19%)	2 (4%)	9 (17%)	4 (7%)	7 (13%)	1 (2%)	2 (4%)
	Ind 30	9 (30%)	20 (67%)	6 (20%)	13 (43%)	22 (73%)	6 (20%)	3 (10%)	4 (13%)	1 (3%)	0	12 (40%)	10 (33%)	4 (13%)	1 (3%)	4 (13%)

Frecuencia de síntomas según serorreactividad

		Fiebre	Cefálea	Escalofrío	Mialgias	Artralgias	Astenia	Vómito	Diaforesis	Anorexia	Pérdida de peso	Náusea	Mareo	Adinamia	Diarrea	Dolor lumbar
Nuevo León	(-) 37	27 (73%)	27 (73%)	16 (43%)	21 (57%)	29 (78%)	20 (54%)	12 (32%)	14 (38%)	7 (19%)	3 (8%)	0	0	0	0	0
	(+) 170	150 (88%)	133 (78%)	128 (75%)	114 (67%)	138 (81%)	119 (70%)	28 (16%)	110 (65%)	80 (47%)	53 (31%)	0	0	0	0	0
	Ind 61	42 (69%)	53 (87%)	35 (57%)	43 (70%)	49 (80%)	38 (62%)	8 (13%)	22 (36%)	22 (36%)	8 (13%)	0	0	0	0	0

Resultados de Laboratorio

Reactividad en BrucellaCapt (Inmunocaptura-Aglutinacion)

Resultado (inverso del título)	Michoacán			Nuevo León			TOTAL		
	Pacientes	Procedencia	Reactividad	Pacientes	Procedencia	Reactividad	Pacientes	Procedencia	Reactividad
0	112	54.4%	75.7%	36	13.5%	24.3%	148	31.3%	100.0%
40	25	12.1%	53.2%	22	8.2%	46.8%	47	9.9%	100.0%
80	13	6.3%	28.3%	33	12.4%	71.7%	46	9.7%	100.0%
160	16	7.8%	39.0%	25	9.4%	61.0%	41	8.7%	100.0%
320	6	2.9%	23.1%	20	7.5%	76.9%	26	5.5%	100.0%
640	8	3.9%	23.5%	26	9.7%	76.5%	34	7.2%	100.0%
1280	9	4.4%	20.5%	35	13.1%	79.5%	44	9.3%	100.0%
2560	8	3.9%	25.8%	23	8.6%	74.2%	31	6.6%	100.0%
≥5120	9	4.4%	16.1%	47	17.6%	83.9%	56	11.8%	100.0%
Total	206	19.40%		267	56.50%		473	40.40%	

Valor de corte 1:320

Prueba cuantitativa de BRUCELLAELISA indirecta

Estado	Resultados en ELISA IgG			Total
	Negativo	Positivo	Dudoso	
Michoacán	119	82	5	206
Procedencia	57.8%	39.8%	2.4%	100.0%
Reactividad	50.6%	35.8%	55.6%	43.6%
Nuevo León	116	147	4	267
Procedencia	43.4%	55.1%	1.5%	100.0%
Reactividad	49.4%	64.2%	44.4%	56.4%
TOTAL	235	229	9	473
Procedencia	49.7%	48.4%	1.9%	100.0%
Reactividad	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

Estado	Resultados en ELISA IgM			Total
	Negativo	Positivo	Dudoso	
Michoacán	161	40	5	206
Procedencia	78.2%	19.4%	2.4%	100.0%
Reactividad	57.1%	23.1%	27.8%	43.6%
Nuevo León	121	133	13	267
Procedencia	45.3%	49.8%	4.9%	100.0%
Reactividad	42.9%	76.9%	72.2%	56.4%
TOTAL	282	173	18	473
Procedencia	59.6%	36.6%	3.8%	100.0%
Reactividad	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

Indice= (DO muestra / DO cut off)*10

Positivo ≥ 11

Dudoso 9-11

Negativo ≤ 9

Comparaciones entre Pruebas

Frecuencia de Reactividad Entre 6 Pruebas Evaluadas

	Conventional	EFLI IgM ₁		EFLI IgG ₁		Brucellacapt		ELISA IgM ₁			ELISA IgG ₁		
		Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
Michoacán	Neg (123)	90 (73%)	33 (27%)	113 (92%)	10 (8%)	101 (82%)	22 (18%)	120 (97%)	2 (2%)	1 (1%)	97 (79%)	22 (18%)	4 (3%)
	Pos (53)	3 (6%)	50 (94%)	6 (11%)	47 (89%)	0	53 (100%)	16 (30%)	33 (62%)	4 (8%)	4 (7%)	48 (91%)	1 (2%)
	Ind (30)	10 (33%)	20 (67%)	24 (80%)	6 (20%)	11 (37%)	19 (63%)	24 (80%)	5 (17%)	1 (3%)	17 (57%)	13 (43%)	0
Nuevo León	Neg (37)	16 (43%)	21 (57%)	33 (89%)	4 (11%)	22 (59%)	15 (40%)	36 (97%)	1 (3%)	0	30 (82%)	7 (19%)	0
	Pos (170)	5 (3%)	165 (97%)	20 (12%)	150 (88%)	0	170 (100%)	46 (27%)	118 (69%)	6 (4%)	42 (25%)	126 (74%)	2 (1%)
	Ind (61)	19 (31%)	42 (69%)	53 (87%)	8 (13%)	14 (23%)	47 (77%)	40 (66%)	15 (25%)	6 (10%)	47 (77%)	14 (23%)	0

Resultados pruebas de laboratorio

1. Entre 473 personas, el diagnóstico convencional identificó un total de 222 casos de brucelosis en la población estudiada (53 en Michoacán y 169 en Nuevo León)
2. El BrucellaCapt tuvo alta coincidencia con la reactividad de las pruebas convencionales
3. La detección de anticuerpos no aglutinantes (pruebas de ELISA), tuvo menor coincidencia con los resultados por diagnóstico convencional, sin embargo, pudieran ser unas pruebas mas adecuadas para la población

Resultados pruebas de laboratorio: continuación

3. El análisis detallado de los resultados de laboratorio continúa, utilizando toda la información disponible y no solamente la binaria (positivo/negativo) o la sugerida por el inserto
4. Parte de este extenso análisis incluye la evaluación de los puntos de corte mas adecuados para la población
5. Parte del objetivo principal es el sugerir nuevos algoritmos diagnósticos que puedan mejorar la capacidad diagnostica y disminuir el número de diagnósticos indeterminados

Tratamiento y Manejo

Con base a la información obtenida para fines de la comparación entre pruebas de laboratorio y reconociendo las limitaciones de la misma

- No todos los pacientes reciben tratamiento luego de ser diagnosticados con la prueba RB
- Una proporción significativa de pacientes se pierden al seguimiento
- Muchos pacientes sólo recibieron uno de los antibióticos recomendado o bien recibieron un antibiótico no recomendado

Resumen

- En Michoacán, hubo un 26% de positividad en muestras iniciales (basales pre tratamiento) versus 63% en Nuevo León, entre pacientes con sospecha clínica de brucelosis y con recomendación de iniciar tratamiento
- Existe diferencia en la selección y manejo de los pacientes, las cuales son áreas de oportunidad para mejorar el programa:
 - Síntomas: utilizar el check list de NL podría ser de mucha utilidad
 - Medicamentos: al parecer existe un problema generalizado
- En la mayoría de las personas incluidas sólo se tiene la muestra inicial, por lo que el análisis tendrá limitaciones en abordar todos sus objetivos
- Sin embargo, el análisis detallado en progreso de la información recolectada es muy prometedor con información valiosa para el laboratorio de diagnóstico y referencia del InDRE

Equipo de Trabajo

DIRECTIVOS

- Dr. Jesús Felipe González Roldán
- Dr. Alberto Díaz Quiñonez
- Biol. Irma López Martínez

CDC

- Dra. Martha Guerra
- Dra. María Negrón
- Personal Adscrito al Laboratorio de Brucelosis
- Dra. Elsa Villarino

CENAPRECE

- Dr. Fernando Vargas Pino
- Dr. Juan Demetrio Rodríguez Morales
- Personal del Programa Estatal de Brucelosis
- Personal del Programa Jurisdiccional
- Médicos contratados a cargo del proyecto, en Michoacán y Nuevo León

InDRE

- Dra. Berenice Salgado
- Dra. Carmen Guzmán Bracho
- Biol. Norma A. Montes Colima
- QBP. Liz Grisel Beltrán Parra
- Personal de los Laboratorios Estatales en Michoacán y Nuevo León

- **Agradecemos la participación de los pacientes**

Esquemas de tratamiento

	INDICACIONES	DOSIS
A	De primera elección en adultos con función renal normal, Mujeres no embarazadas, ni en lactancia.	Tetraciclina tabletas o comprimidos 500 mg cada 6 horas por 21 días + Estreptomicina solución inyectable de 1 g cada 24 horas por 21 días.
B	Indicado en niños menores de 8 años, mujeres embarazadas (después del primer trimestre), y ancianos.	<u>Adultos:</u> Rifampicina 300 mg cada 8 horas + Trimetoprim con Sulfametoxazol 160/800 mg cada 12 horas por 21 días. <u>Niños:</u> Rifampicina 20 mg/kg/día dividido en tres dosis + Trimetoprim con Sulfametoxazol 8/40 mg/kg/día dividido en dos dosis, por 21 días.
C	En los casos en los que exista fracaso con la ministración de los esquemas A y B, o en los que la enfermedad presenta curso prolongado.	<u>Adultos:</u> Doxiciclina 200 mg, cada 24 horas por seis semanas + Rifampicina 600-900 mg, cada 24 horas por seis semanas. <u>Niños:</u> Doxiciclina 4-5 mg/kg/día, por seis semanas dividido en tres dosis + Rifampicina 20 mg/kg/día, dividido en tres dosis por seis semanas.

ESQUEMAS ALTERNATIVOS PARA MAYORES DE 18 AÑOS

Se identifican las siguientes combinaciones:

- PRIMER ESQUEMA ALTERNO: Ciprofloxacino 1500 mg dividido en dos dosis por 45 días, + Rifampicina 900 mg por 45 días, dividido en tres dosis.
- SEGUNDO ESQUEMA ALTERNO: Levofloxacino 1500 mg cada 24 horas, por 45 días + Rifampicina 900 mg dividido en tres dosis, por 45 días.
- Con fines prácticos para orientar la selección y uso de estos antibióticos se recomienda consultar el cuadro que se anexa.

Esquemas de tratamiento

	INDICACIONES	DOSIS
A	De primera elección en adultos con función renal normal, Mujeres no embarazadas, ni en lactancia.	Tetraciclina 4 comprimidos / día + Estreptomicina inyectable cada 24 horas Esquema de 21 días.
B	Indicado en niños menores de 8 años, mujeres embarazadas (después del primer trimestre), y ancianos.	Rifampicina 3 tabletas / día + Trimetoprim con Sulfametoxazol 2 tabletas / día Esquema de 21 días.
C	En los casos en los que exista fracaso con la ministración de los esquemas A y B, o en los que la enfermedad presenta curso prolongado.	Doxiciclina 1 tableta / día (niños tres tomas) + Rifampicina 1 tableta / día Esquema de 6 semanas.
A1	Esquema alternativo para mayores de 18 años	Ciprofloxacino 2 tabletas / día + Rifampicina 3 tabletas / día Esquema de 45 días
A2	Esquema alternativo para mayores de 18 años	Levofloxacino 1 tableta / día + Rifampicina 3 tabletas / día Esquema de 45 días