

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



**“Caracterización de la infección
concurrente por los virus de la influenza
y el dengue en pacientes de cuatro
hospitales de El Salvador, 2012”**

**Trabajo de investigación presentado por
Rafael Alberto Chacón Fuentes
para optar al grado de Maestría en
Epidemiología de Campo (FETP)**

**Guatemala
2013**

“Caracterización de la infección concurrente por los virus de la influenza y el dengue en pacientes de cuatro hospitales de El Salvador, 2012”


UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades

**“Caracterización de la infección
concurrente por los virus de la influenza
y el dengue en pacientes de cuatro
hospitales de El Salvador, 2012”**

**Trabajo de investigación presentado por
Rafael Alberto Chacón Fuentes
para optar al grado de Maestría en
Epidemiología de Campo (FETP)**

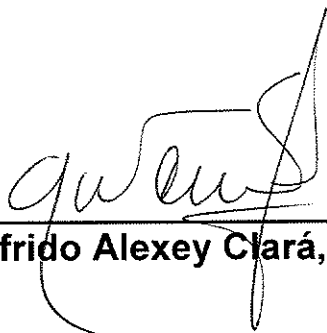
**Guatemala
2013**

Vo. Bo.:

(f) 

Wilfrido Alexey Clará, MD

Tribunal Examinador:

(f) 

Wilfrido Alexey Clará, MD

(f) 

Miguel Ángel Descalzo, PhD

(f) 

Reina Turcios-Ruiz, MD

Fecha de Aprobación: Guatemala, 2 de octubre de 2013

PREFACIO

La influenza y el dengue son enfermedades altamente prevalentes en los trópicos, donde circulan durante todo el año. En Centroamérica se observa un incremento en el número de casos ocasionados por estas patologías en recurrencias anuales durante el periodo de lluvias. Ambas pueden ocasionar cuadros clínicos que transitan desde síntomas leves hasta presentaciones tan severas que pueden requerir manejo hospitalario y ocasionar la muerte.

Estas enfermedades afectan a todos los grupos de edad, a personas de ambos sexos, y a los miembros de los diferentes estratos sociales y económicos. Ocasionan ausentismo laboral y escolar, cierre de comercios, sobrecargas en los servicios de salud y pánico en la población. Son seguidas muy de cerca por los medios de comunicación, y por la sociedad en general, debido a su capacidad de hacer daño. Muchas veces los brotes y epidemias ocasionados por estos virus son interpretados por la población como fallas en las medidas de prevención y control por parte de las entidades de salud.

Aunque ambas son enfermedades que se consideran muy diferentes entre sí, para las presentaciones graves, la diferenciación clínica es muy difícil. Tanto para el diagnóstico de la influenza como del dengue se recomienda la confirmación por medio de laboratorio. Sin embargo, la confirmación es infrecuente debido a las limitaciones en las capacidades de procesamiento de las muestras. No es usual que el personal que atiende pacientes solicite prueba de dengue e influenza de manera simultánea, cuando se hace, se realiza por descarte, es decir, si una es negativa se procede a solicitar la otra. Esta práctica no está estandarizada.

Durante la pandemia de influenza H1N1 de 2009-10, algunos médicos que brindaban atención a pacientes, guiados por criterios clínicos y epidemiológicos, tuvieron la iniciativa de tomar muestras para el diagnóstico de ambas enfermedades. Ellos encontraron que ciertos casos presentaban infecciones concurrentes por ambos virus. Al respecto se han descrito casos con cuadros clínicos con sintomatología de las dos enfermedades. Ha sido reportado que la severidad de los casos se incrementa por la infección concurrente, sin embargo hay otros informes que niegan esto. En ninguno de los casos se sistematizó el diagnóstico simultáneo de estas

enfermedades. Queda entonces la interrogante de qué tan frecuente es la infección concurrente influenza-dengue, y que tanto afecta en la gravedad de los casos.

Ante esta interrogante me propuse hacer una estimación de la prevalencia y una descripción de la infección concurrente por el virus de la influenza y el dengue en pacientes hospitalizados. Además aprovechar la sistematización en la utilización de pruebas de laboratorio específicas para cada virus como plataforma para identificar a cada uno de los sujetos con una u otra enfermedad y así determinar las diferencias y similitudes en la presentación clínica. Esto contribuirá a la generación de nuevo conocimiento sobre el diagnóstico diferencial de estas enfermedades.

Agradezco a Dios todopoderoso por haberme dado la oportunidad de formarme profesionalmente en los caminos de la salud, lo que me ha permitido tomar conciencia del impacto de estas enfermedades, y por permitirme contribuir a la colocación de este tema en las agendas de salud de los países centroamericanos. También doy las gracias a mis tutores, compañeros y profesores por haberme guiado en cada una de las etapas del desarrollo de esta investigación. Expreso un reconocimiento especial a mi esposa por todo su apoyo, el cual facilitó enormemente mi labor.

Esta investigación está dedicada a los médicos y enfermeras de los hospitales, que como yo, en algún momento nos vimos confundidos en distinguir una u otra enfermedad en nuestros pacientes. También va dedicado a los funcionarios de salud pública para enriquecer la discusión orientada a la prevención y control de los casos graves por estas enfermedades.

Espero que los resultados de esta investigación alienten a ahondar en la determinación del impacto de la infección concurrente influenza-dengue en la severidad de los casos, y en la implementación de medidas de prevención y control de ambas enfermedades con miras a la disminución de su morbilidad y mortalidad.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio no se podría haber llevado a cabo sin participación de los equipos liderados por las siguientes personas:

- Dr. Wilfrido Clará Majano. Coordinador. Influenza Division, CDC-CAR, Guatemala
- Dr. Jorge Jara Consuegra. Universidad del Valle de Guatemala, Centro de Estudios en Salud.
- Dr. Miguel Ángel Descalzo. Universidad del Valle de Guatemala, Centro de Estudios en Salud.
- Dra. Reina Turcios. Field Epidemiology Training Program. CDC-CAR, Guatemala.
- Dr. Nivaldo Linares. Influenza Division, CDC-CAR, Guatemala
- Dr. Julio Armero. Dirección de Vigilancia Sanitaria, Ministerio de Salud de El Salvador.
- Lic. Celina de Lozano. Laboratorio Central “Max Bloch”, MINSAL de El Salvador
- Dr. Eduardo Azziz-Baumgartner. Influenza Division, CDC, Atlanta, EEUU
- DVM. MSc. Marc-Alain Widdowson. Influenza Division, CDC, Atlanta, EEUU.
- Dr. Enrique Mena. Hospital Nacional de Niños “Benjamín Bloom”, San Salvador.
- Dra. Elizabeth de Cuellar. Hospital San Juan de Dios de Santa Ana.
- Dra. Jeny Nolasco. Hospital Nacional “San Juan de Dios” en San Miguel.
- Dr. Mauricio Abarca. Hospital Nacional “Nuestra Señora de Fátima” en Cojutepeque.

Coordinadores hospitalarios:

- Dra. Leticia López. Hospital Nacional de Niños “Benjamín Bloom”, San Salvador.
- Dra. Briseida Ortiz. Hospital Nacional “San Juan de Dios” en Santa Ana.
- Dra. Mireya Magaña. Hospital Nacional “San Juan de Dios” en San Miguel.
- Dr. Vinicio Guzmán. Hospital Nacional “Nuestra Señora de Fátima” en Cojutepeque

Administración

- Lic. Astrí Alvarado. Administradora. Unidad de Influenza. UVG-CES y su equipo.

CONTENIDO

	página
PREFACIO.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vii
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	ix
RESUMEN.....	x
I INTRODUCCIÓN.....	1
II MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
III RESULTADOS.....	21
IV DISCUSIÓN.....	34
V CONCLUSIONES.....	38
VI RECOMENDACIONES.....	39
VII BIBLIOGRAFÍA.....	40

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas	Página
1 Principales hallazgos de estudios previos de infección concurrente influenza-dengue.	3
2 Distribución del tamaño muestral por hospitales participantes	9
3 Distribución semanal de la muestra proyectada	9
4 Diferencias entre los casos que aceptaron/rechazaron participar	23
5 Sujetos inscritos de acuerdo al sexo, grupos de edad, hospital y confirmación diagnóstica	24
6 Resultados de PCR para influenza y dengue según grupo de clasificación al ingreso y grupos de edad	25
7 Características de sensibilidad y especificidad de las clasificaciones al ingreso para identificar casos confirmados de influenza y dengue	26
8 Sintomatología respiratoria o de dengue según clasificación al ingreso y confirmación diagnóstica	27
9 Diagnósticos al egreso y confirmación diagnóstica según clasificación al ingreso	29
10 Principales hallazgos de los casos con infección concurrente influenza-dengue	31
11 Hallazgos de resultados de hemogramas	32
12 Diferencias de la severidad agrupada por cuadro clínico y manejo entre los casos según su clasificación al ingreso y el resultado diagnóstico	33
Figuras	Página
1 Ubicación de los hospitales donde se realizó el estudio	6
2 Diagrama del flujo de las actividades para la inscripción, toma de muestra y manejo de la información del estudio	17
3 Distribución de los casos inscritos y sus resultados diagnósticos	22

RESUMEN

Introducción: Aunque su detección no fue sistemática, la infección concurrente influenza-dengue fue descrita durante la pandemia de influenza de 2009-10. Los objetivos de este estudio son: estimarla prevalencia de infección concurrente por virus de influenza y del dengue en pacientes hospitalizados por Infección Respiratoria Aguda Grave, como por Sospecha de dengue en El Salvador, describir el perfil clínico y epidemiológico de los casos, tanto de influenza, como dengue y de la infección concurrente entre ambos virus y hacer aportes para el diagnóstico diferencial entre ambas enfermedades.

Métodos: Se estudiaron los casos hospitalizados que cumplían, tanto con la definición de caso de Infección Respiratoria Aguda Grave como con la definición de caso de Sospecha de dengue, en: un hospital pediátrico de referencia nacional, dos hospitales de referencia regional y un hospital general de El Salvador; todos estos están designados para la vigilancia centinela de la influenza y el dengue. Se incluyeron todos los casos mayores de 28 días de edad que consintieron participar. Para la recolección de los datos se utilizaron cuestionarios electrónicos estandarizados. Se recogieron los datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes, mediante la revisión de las historias clínicas, y los resultados de los exámenes de laboratorio y gabinete. Se obtuvieron muestras nasales y muestras de sangre de forma simultánea de todos los participantes. Todas las muestras fueron analizadas mediante pruebas de Transcriptasa reversa de la Reacción en Cadena de la Polimerasa RT-PCR de tiempo real en busca de virus de influenza y dengue en el Centro Nacional de Influenza de El Salvador. Para el análisis se utilizaron porcentajes, medias y medianas cuando se consideró apropiado. Se utilizaron OR para la comparación de variables, con intervalo de confianza del 95% mediante la prueba de Chi². Se utilizó el test de Fisher cuando fue apropiado.

Resultados: Se inscribieron 321 sujetos, de los cuales 198 (62%) fueron casos de Infección Respiratoria Aguda Grave y 123 (38%) fueron Sospecha de dengue. La infección concurrente influenza-dengue ocurrió en 3 de los 321 sujetos inscritos (0.9%, IC95% = 0.2-2.7%). Todos menores de 10 años. No hubo diferencias entre la proporción de los sexos masculino y femenino entre los caso clasificados a su ingreso como Infección Respiratoria Aguda Grave o Sospecha de

dengue. En general, los casos con Sospecha de dengue tenían mayor edad que aquellos con Infección Respiratoria Aguda Grave. El 10% (IC 95% = 5.9-14.3%) de todos los casos de Infección Respiratoria Aguda Grave y el 19% (IC 95% = 11,7-25.7%) de los casos graves de dengue fueron positivas para el virus de la influenza y negativos para el virus del dengue. De los 23 casos ingresados por Sospecha de dengue que resultaron positivos a influenza, el 65% (15 casos) presentaban uno o más síntomas respiratorios. La razón de verosimilitud para un resultado positivo de influenza fue mayor en aquellos casos con sospecha de dengue al ingreso (1.9, IC 95% = 1.1 a 3.3) que los casos de Infección Respiratoria Aguda Grave (0.5, IC 95% = 0.3-0.9).

Discusión: La infección concurrente de influenza y dengue se identificó en el periodo de mayor circulación viral de ambos virus en El Salvador, y fuera del periodo en el que ocurrió la pandemia. Se encontró que la influenza es un importante diagnóstico diferencial a considerar en los pacientes hospitalizados por Sospecha de dengue. Se recomienda actualizar la definición de caso de Infección Respiratoria Aguda Grave para una mayor captación de casos de influenza, considerar una definición de caso de dengue más específica, evaluar el tratamiento empírico con oseltamivir dentro de las 48 horas de inicio de síntomas en los casos con Sospecha de dengue con algún síntoma respiratorio o en los casos muy graves, y considerar tomar muestras nasales para todos los casos graves de dengue hospitalizados durante la temporada de influenza.

Palabras clave: influenza, dengue, infección concurrente.

I. INTRODUCCIÓN

La influenza y el dengue son enfermedades transmisibles consideradas de especial importancia por el Reglamento Sanitario Internacional (RSI) ya que han demostrado que pueden tener graves repercusiones de salud pública y pueden propagarse internacionalmente con rapidez (World Health Organization 2005).

Ambas enfermedades son causadas por virus ARN. La influenza es una infección viral ocasionada por el virus de la influenza, el cual pertenece a la familia de los Ortomixoviridae y se caracteriza por una elevación súbita de la fiebre, cefalea, dolores musculares, malestar general, tos no productiva, dolor de garganta y rinitis. Se transmite por gotas que contienen partículas virales y son expulsadas por la tos y estornudos por personas enfermas. Puede causar brotes extensos y su circulación presenta patrones estacionales. (Holmes 2009; Stamboulian et al. 2000)

El virus del dengue pertenece a la familia de los Flaviviridae y ocasiona enfermedad febril aguda y ocasionalmente enfermedad hemorrágica. Se caracteriza por fiebre intensa, cefalea, dolor retro-ocular, mialgias y artralgias. Es transmitido por el mosquito *Aedes aegypti* y ocasiona brotes y epidemias en países tropicales y subtropicales (Holmes 2009; Halstead 2007).

En Centroamérica, hay evidencia de que la circulación del virus de la influenza se incrementa anualmente entre los meses de junio a septiembre (Viboud et al. 2006; Armero et al. 2010). Por otro lado, el número de casos de dengue se incrementa también durante el mismo periodo, el cual coincide con la época de lluvia en dicha región (Colón-González et al. 2011). Se han reportado brotes simultáneos de influenza y dengue en los países tropicales y subtropicales del continente americano (Rodríguez et al. 2010). Estudios previos también han mostrado casos de pacientes con probable infección concurrente de influenza estacional y dengue (Suttinont et al. 2006; Leelarasamee et al. 2004).

En 2009, la aparición de la pandemia de influenza A H1N1 coincidió con la típica estación de dengue en muchos países tropicales y subtropicales. Dado que ambos virus estuvieron circulando simultáneamente en las mismas comunidades en muchos lugares, es probable que se haya incrementado el riesgo de infección concomitantemente por ambos virus (Borthakur et al. 2011).

Alrededor del mundo hubo reportes de personas con infección concurrente de influenza y dengue (World Health Organization 2010). India, Vietnam, Puerto Rico, Barbados, Nicaragua y El Salvador reportaron pacientes con infección simultánea de influenza y dengue comprobada por laboratorio, con cuadros clínicos que variaron desde sintomatología inespecífica de leve a moderada intensidad hasta cuadros clínicos respiratorios graves o de dengue severo con

compromiso sistémico (Rodriguez et al. 2010; Borthakur et al. 2011; World Health Organization 2010; Tre 2009; PAHO 2009a; Gordon et al. 2010; Perez et al. 2010; PAHO 2009b; Martinez 2009). Vietnam, Nicaragua y Barbados reportaron además fallecimientos de pacientes con esta condición (Tre 2009; PAHO 2009a; Perez et al. 2010).

En India, se reportó un paciente masculino de 23 años de edad, quien adquirió dengue y durante su convalecencia se infectó con influenza A H1N1 pandémica (H1N1pdm09), ambos confirmados por laboratorio. El paciente desarrolló neumonía bilateral, disfunción hepática y renal, por lo cual recibió cuidados intensivos y tratamiento con oseltamivir mostrando mejoría notable (Borthakur et al. 2011). Vietnam reportó cuatro casos de infección concurrente con influenza A H1N1pdm09 y dengue, de los cuales dos fallecieron (Tre 2009). Puerto Rico reportó el caso de una mujer de 33 años de edad con fiebre, dolor de garganta, tos, cefalea, y prueba de lazo (o prueba de torniquete) positivo. Fue manejada ambulatoriamente con oseltamivir presentando evolución satisfactoria, confirmándose infección por influenza A H1N1pdm09 e infección secundaria por dengue (Rodriguez et al. 2010). Barbados reportó 8 casos de pacientes con infección simultánea de influenza y dengue 3, sin proporcionar detalles de la presentación clínica de los mismos (PAHO 2009a) (Tabla 1).

Nicaragua reportó 8 casos de infección concomitante de influenza y dengue diagnosticadas por RT-PCR (Reacción en cadena de polimerasa en transcriptasa reversa) y ELISA (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) respectivamente (PAHO 2009a; Perez et al. 2010). También se reportaron cuatro casos de pacientes pediátricos en los cuales se confirmó la infección concurrente de influenza A H1N1pdm09 y dengue por RT-PCR. La presentación clínica varió desde enfermedad tipo influenza hasta dengue severo, pero todos desarrollaron síntomas de dengue y presentaron infiltrados intersticiales en las radiografías de tórax. Tres pacientes requirieron manejo de terapia intensiva y uno falleció (Perez et al. 2010). Por su lado, El Salvador reportó 4 casos de infección concurrente influenza A H1N1pnd09y dengue en cuatro pacientes sin describir detalles de la presentación clínica (PAHO 2009b; Martinez 2009) (Tabla 1).

El virus de influenza A H1N1pnd09 se replica en las células epiteliales del sistema respiratorio y puede llegar a causar el Síndrome del Dificultad Respiratoria del Adulto (SDRA) a través de la desregulación de citoquinas proinflamatorias de los macrófagos (Srivastava et al. 2009; Dominguez-Cherit et al. 2009; Louie et al. 2009; Mok et al. 2007). Hay evidencia de que el epitelio respiratorio también es blanco del virus del dengue y que el síndrome de choque por dengue puede producir también un SDRA (Lee et al. 2007; Lum et al. 1995). Ambos virus pueden causar degeneración de las células infectadas a través de la inducción de apoptosis celular (Srivastava et al. 2009; Koyama et al. 1998; Courageot et al. 2003; Jan et al. 2000).

Tabla 1. Principales hallazgos de estudios previos de infección concurrente influenza-dengue.

Situación epidemiológica / País / Año (Ref)	Casos reportados	Edades	Síntomatología ^a		Diagnóstico		Nivel de atención y desenlace
			Resp	Dengue	Influenza	Dengue	
Estacional							
Tailandia (2001-02) (Suttinont et al. 2006)	4	15-89 años	NR	NR	ELISA ^c	ELISA ^c	Casos hospitalizados
Tailandia (1991-93) (Leelarasamee et al. 2004)	1	62 años ^b	NR	NR	ELISA ^c	ELISA ^c	Fallecida
Pandémica (H1N1pnd09)							
Arabia Saudita (Hussain et al. 2012)	1	44 años	Sí	No	PCR	PCR	Admitido en UCI
Puerto Rico (Rodríguez et al. 2010)	1 ^d	33 años	Sí	No	PCR	PCR	Caso ambulatorio
Puerto Rico (Lorenzi et al. 2013)	1	NR	NR	NR	PCR	NR	NR
Vietnam (Tre 2009)	2	NR	NR	NR	NR	NR	Fallecidos
El Salvador (Martinez 2009)	4	Dos niños	NR	NR	PCR	ELISA ^e	--
India (Borthakur et al. 2011)	1	23 años	Sí	Sí	ELISA ^c	ELISA ^c	Admitido en UCI
Barbados (PAHO 2009a)	8	NR	NR	NR	PCR	PCR ^f	--
Nicaragua (Perez et al. 2010)	4	5-11 años	3 Sí	4 Sí	PCR	PCR ^f	3 admitidos en UCI, 1 falleció

^aSíntomas característicos excluida la fiebre. ^bPresentaba también diagnóstico de fiebre tifoidea. ^cSeriatas. ^dTrabajadora de salud. ^eNo seriatas (una sola muestra por caso). ^fDengue 3. Resp Respiratorio. NR No reportado. UCI Unidad de Cuidados Intensivos.

Por otro lado, se ha demostrado que la proteína no estructural (NS1) del virus de la influenza A juega un papel muy importante en la inhibición de la producción del interferón, condicionando a una disminución de la respuesta antiviral (Hale et al. 2008; Bergmann et al. 2000). Mientras tanto, la respuesta inmune ampliada por citoquinas está incrementada en la infección por dengue así como la inhibición de la liberación de interferón alfa y aumento en la liberación del interferón gamma (Braga et al. 2001; Jones et al. 2005). A pesar de estos hallazgos, permanecen aún poco claros cuáles son los mecanismos fisiopatológicos que estarían interactuando cuando hay una infección concomitante por ambos virus y la manera en que lo estarían haciendo.

No se conoce la frecuencia de la infección concurrente con influenza y dengue en países tropicales ni su relación con la severidad de la sintomatología. En algunos países se han hecho esfuerzos parciales para determinarla, pero los mismos dependen de la perspicacia del médico tratante o de medios diagnósticos inmunológicos (IgM para dengue no seriadas) que pueden tener menor sensibilidad y especificidad (Center for Disease Control and Prevention 2012). Llegar a conocer esto puede contribuir a una mejor preparación para el adecuado diagnóstico y el abordaje terapéutico de estos pacientes en el periodo del año en el que se incrementa la circulación de estos virus. Además, es necesario identificar si hay alguna relación entre este evento y la severidad de los cuadros clínicos, pues esto obligaría a actualizar los protocolos de diagnóstico y de tratamiento en pacientes febriles graves en temporadas de actividad de la influenza y el dengue.

Mediante este estudio se ha buscado determinar la frecuencia de la infección concurrente de influenza y dengue en pacientes hospitalizados en cuatro hospitales centinelas de vigilancia de influenza en El Salvador, durante una época del año en la cual históricamente se han presentado alta circulación de los virus de influenza y dengue en la población. Al mismo tiempo, se hace la caracterización clínica y epidemiológica de estos casos.

Los principales destinatarios de los resultados del estudio serán los grupos médicos que brindan la atención clínica de los casos, y su aplicabilidad principal es alertar sobre la posibilidad de la presencia de la infección concurrente de influenza-dengue, su relación con la severidad de los casos, y contribuir al reconocimiento de la presentación clínica y diagnóstico diferencial entre los casos de influenza-dengue. La información obtenida podría contribuir a la toma de decisiones en torno a las estrategias de vacunación contra influenza.

Objetivo general: estimar la prevalencia de la infección concurrente por los virus de influenza y del dengue en pacientes hospitalizados, ingresados por Infección Respiratoria Aguda Grave (IRAG) o Sospecha de dengue (SD) en El Salvador durante el periodo húmedo de 2012.

Objetivos específicos: describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes hospitalizados con infección concurrente con influenza y dengue, e identificar la asociación entre la infección concurrente y severidad de la enfermedad.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La República de El Salvador está ubicada en la América Central. Colinda al norte y este con Honduras, al oeste con Guatemala y al sur con el Océano Pacífico (13 50 N, 88 55 W). Su extensión territorial terrestre es de 20,721 km². Cuenta con una población de 6.1 millones de habitantes, con una tasa de crecimiento poblacional de 0.29%. Es el país más densamente poblado de Centroamérica. El 64% de la población vive en áreas urbanas. Cuenta con clima tropical, con temporada de lluvias de mayo a octubre, y temporada seca de noviembre a abril. La cumbre más alta se encuentra en El Pital, a 2,730 MSNM. El idioma oficial es el español. Cuenta con los siguientes grupos étnicos: mestizos (86.3%), blancos (12.7%) amerindios (1%). Los grupos de edad se distribuyen de la siguiente manera: 0-14 años: 28.9%; 15-24 años: 20.9%; 25-54 años: 37.0%; 55-64 años: 6.5%; 65 y más años: 6.7%. Hay un gradual envejecimiento de la población y disminución en el número de jóvenes. Su territorio está organizado en 14 departamentos. Su capital es la ciudad de San Salvador, y las ciudades de Santa Ana y San Miguel son también importantes centros poblacionales, culturales y comerciales. Cuenta con una cama hospitalaria por cada 1000 habitantes y un gasto en salud de 6.9% del Producto Interno Bruto (CIA 2013).

El estudio se llevó a cabo en los 4 hospitales de la red de salud pública que participan en la vigilancia centinela de influenza en El Salvador (Figura 1):

1) *Hospital Nacional de Niños “Benjamín Bloom” en la ciudad de San Salvador:*

Es el único hospital pediátrico de tercer nivel de atención a nivel nacional. Atiende a población menor de 12 años de edad procedente de todo el país. Cuenta con 285 camas hospitalarias censables. Produce un aproximado de 14,400 egresos anuales.

2) *Hospital Nacional “San Juan de Dios” en la ciudad de Santa Ana:*

Es el hospital general de referencia para la región occidental del país. Atiende a pacientes de todos los grupos de edad. Cuenta con 469 camas hospitalarias censables. Produce un aproximado de 33,000 egresos anuales.

3) *Hospital Nacional “San Juan de Dios” en la ciudad de San Miguel:*

Es el hospital general de referencia para la región oriental del país. Atiende a pacientes de todos los grupos de edad. Cuenta con 559 camas hospitalarias censables. Produce un aproximado de 47,792 egresos anuales.

4) Hospital Nacional “Nuestra Señora de Fátima” en la ciudad de Cojutepeque:

Es un hospital general de segundo nivel de atención. El más importante del departamento de Cuscatlán. Atiende a pacientes de todos los grupos de edad. Cuenta con 90 camas hospitalarias censables. Produce un aproximado de 10,500 egresos anuales (Ministerio de Salud de El Salvador 2013).

Figura 1. Ubicación de los hospitales donde se realizó el estudio



El periodo de reclutamiento de sujetos fue del 5 de julio al 30 de septiembre de 2012.

Los sujetos de estudio fueron aquellos casos hospitalizados por IRAG o por SD en cualquiera de los hospitales participantes que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión:

A. Criterios de inclusión

1. Persona con una enfermedad respiratoria que cumplía la definición de caso de IRAG (Pan-American Health Organization-CDC 2006):

- aparición súbita de fiebre superior a 38°C y
- tos o dolor de garganta y
- disnea (dificultad para respirar) y
- con indicación de hospitalización

2. Que fue hospitalizado por SD, según lineamientos nacionales (Ministry of Health El Salvador 2010b):

Aparición de fiebre súbita más al menos dos de las siguientes manifestaciones:

malestar general,

cefalea,

dolor retro ocular,

mialgias/artralgias,

exantema,

anorexia,

náuseas,

historia de sangrado espontáneo o prueba de lazo positiva,

leucopenia < 5,000 glóbulos blancos x mm³,

cualquiera de los signos de alarma:

dolor abdominal espontáneo intenso y sostenido,

vómitos persistentes, acumulación corporal de líquidos clínicamente demostrable,

sangrado de mucosas,

letargia/irritabilidad,

astenia,

agrandamiento del hígado mayor de 2 cm,

aumento del hematocrito (asociado a una disminución rápida del conteo de plaquetas dentro de un periodo de 24 horas).

B. Criterios de exclusión

1. Menor de 28 días de edad a su ingreso al hospital

2. Tiempo transcurrido > 5 días desde el inicio de síntomas hasta la tamización.

3. Casos sospechosos de dengue o influenza que, habiendo sido ingresados por otra causa, inician síntomas después de las 72 horas de hospitalización (infecciones intrahospitalarias o nosocomiales).

4. Que el motivo principal de su ingreso sea neumonía nosocomial o riesgo social*

* En El Salvador se considera paciente con riesgo social si vive solo, tiene difícil acceso al centro de salud, o vive en pobreza extrema. Estos serán excluidos ya que su condición clínica no es el motivo de ingreso, lo que puede sesgar en la percepción de severidad de la población estudiada.

C. Tamaño de la muestra

Se utilizó la fórmula para estimar proporciones en poblaciones finitas:

$$n_0 = \frac{Nz^2 p(1-p)}{(N-1)E^2 + z^2 p(1-p)}$$

Dónde:

- n_0 = Tamaño muestral calculado
- z = Valor de z para un nivel de confianza determinado
- p = Prevalencia estimada de la condición estudiada
- E = Error muestral
- N = Población de la cual se extraerá la muestra

El tamaño muestral se ajustó a pérdidas a través de la siguiente fórmula:

$$n_1 = n_0 * (1/(1-TdP))$$

Donde:

- n_1 = Tamaño muestral ajustado a pérdidas
- n_0 = Tamaño muestral calculado
- TdP = Tasa de pérdidas prevista

Se asumieron los siguientes supuestos:

N=	1146	Población estimada para junio-agosto 2012 (Mediana quinquenal [2006–2010] de egresos por IRAG o dengue durante junio-agosto en los hospitales participantes) (Ministry of Health El Salvador 2012)
z=	1.96	Valor de z para un nivel de confianza del 95%
p=	50%	Prevalencia estimada de infección concurrente influenza-dengue
E=	5%	Error muestral
TdP=	15%	Tasa de pérdidas prevista

El tamaño muestral ajustado a pérdidas se calculó en **331** personas

D. Muestreo

La muestra se distribuyó de manera proporcional de acuerdo al número de personas elegibles que se esperaba fueran ingresadas en cada hospital durante junio-agosto de 2012. La distribución quedó así:

Tabla 2. Distribución del tamaño muestral por hospitales participantes.

Hospitales participantes	N	N/1146	n
Hospital de Niños Benjamín Bloom	241	0.21	70
Hospital San Juan de Dios de Santa Ana	420	0.37	122
Hospital San Juan de Dios de San Miguel	342	0.30	99
Hospital Nacional de Cojutepeque	143	0.12	40
Total	1146	1	331

Esta muestra se distribuyó de manera proporcional entre los cuatro hospitales participantes de acuerdo al número de ingresos con IRAG o SD por hospital y por semana epidemiológica. La distribución de la muestra quedó de la siguiente manera:

Tabla 3. Distribución semanal de la muestra proyectada.

SE*	Del, al (2012)	H. Bloom			H. Santa Ana			H. San Miguel			H. Cojutepeque			Total de 4 hospitales
		N [†]	N/241	n [§]	N [†]	N/420	n [§]	N [†]	N/342	n [§]	N [†]	N/143	n [§]	
23	03-Jun - 09-Jun	12	0.05	3	28	0.07	8	23	6.7%	7	6	0.04	2	20
24	10-Jun - 16-Jun	17	0.07	5	40	0.10	12	26	0.08	8	9	0.06	3	28
25	17-Jun - 23-Jun	22	0.09	6	29	0.07	8	33	0.10	10	11	0.08	3	27
26	24-Jun - 30-Jun	14	0.06	4	33	0.08	10	29	0.08	8	13	0.09	4	26
27	01-Jul - 07-Jul	26	0.11	8	37	0.09	11	32	0.09	9	14	0.10	4	32
28	08-Jul - 14-Jul	21	0.09	6	52	0.12	15	39	0.11	11	11	0.08	3	35
29	15-Jul - 21-Jul	30	0.12	9	42	0.10	12	30	0.09	9	18	0.13	5	35
30	22-Jul - 28-Jul	28	0.12	8	37	0.09	11	36	0.11	10	14	0.10	4	33
31	29-Jul - 04-Aug	26	0.11	8	36	0.09	10	36	0.11	10	19	0.13	5	33
32	05-Aug - 11-Aug	25	0.10	7	46	0.11	13	34	0.10	10	12	0.08	3	33
33	12-Aug - 18-Aug	20	0.08	6	40	0.10	12	24	0.07	7	16	0.11	4	29
	Total	241		70	420		122	342		99	143		40	331

*Semana Epidemiológica. Calendario 2012 † Población (mediana quinquenal [2006–2010] de egresos por IRAG o dengue durante Junio-Agosto) (Esperados). (Ministry of Health El Salvador 2012). § Tamaño muestral

Por ejemplo, para la semana 23 se estimó que serían hospitalizados 69 pacientes con IRAG o con SD, de los cuales se deberían haber seleccionado 20, así: En el Hospital Benjamín Bloom se

seleccionarían 3 de 12 ingresados, en el Hospital de Santa Ana 8 de 28, en el Hospital de San Miguel 7 de 23 y en el Hospital de Cojutepeque 2 de 6. En las dos primeras semanas del estudio los casos se seleccionaban de manera aleatoria simple mediante el uso de tarjetas, de la siguiente manera: previamente se proporcionaba un número de tarjetas cuya cantidad equivalía a los casos esperados para esa semana. El coordinador identificaba al sujeto a reclutar, y si cumplía con los criterios de inclusión y exclusión, extraía una tarjeta (previamente codificada y colocada en orden aleatorio de acuerdo a un listado de números aleatorios). Si aparecía una viñeta verde, se procedía con su inscripción; si era roja se rechazaba. Dada la baja prevalencia de casos detectada en este año, se decidió reemplazar este método de búsqueda por la inclusión de todos los potenciales sujetos que consentían participar. En el 55% (6 de 11) de las semanas previstas no se logró completar la cuota semanal, por lo que se extendió un mes más el periodo de inscripción de los casos.

E. Variables y registro de variables

De cada participante se colectaron los datos epidemiológicos y clínicos a través de entrevista al participante (padres/tutores o familiares, según corresponda), examen físico, revisión de expediente clínico y/o revisión de los resultados de exámenes de laboratorio y de gabinete. Estos datos se registraron en el Formulario de Recolección de Datos a través de aplicación electrónica en tabletas. Los datos colectados fueron:

Datos generales: edad, sexo, procedencia y diagnóstico de ingreso.

Antecedentes de vacunación contra influenza.

Condiciones de salud preexistentes.

Atención medica antes del ingreso actual.

Signos y síntomas de la enfermedad que motivo el ingreso.

Resultados de gabinete.

Medicamentos y productos sanguíneos administrados.

Resultados de pruebas de laboratorio para detección de influenza y dengue.

Resultados de pruebas de laboratorio bacteriológicas.

Severidad de la enfermedad: ingreso a cuidados intensivos, suplementación de oxígeno, diálisis, reanimación cardiopulmonar, Síndrome de Dificultad Respiratoria del Adulto (SDRA), coagulación intravascular diseminada, síndrome hemofagocítico, sepsis, choque, disfunción miocárdica, infarto del miocardio, falla hepática, falla renal, encefalitis/encefalopatía, derrame pleural que causa restricción pulmonar, ascitis masiva que causa restricción pulmonar, trombocitopenia, hemorragia, muerte).

Resultados de la hospitalización: fecha de egreso hospitalario, días de estancia hospitalaria, diagnósticos de egreso, condición al egreso, fallecimiento, causa básica de defunción, resultado del embarazo y neonatal (si la participante está embarazada o en su primera semana de puerperio).

Para este estudio no se sistematizó la clasificación del estado nutricional basado en las medidas de peso, talla y edad. Se obtuvo el dato del estado nutricional siempre que estuviere consignado por el médico tratante en el expediente clínico.

Se definió como caso de infección concurrente con influenza y dengue a todo participante del estudio con resultados de RT-PCR en tiempo real positivos para influenza y dengue.

Se definió como caso de influenza a todo participante del estudio con resultados de RT-PCR en tiempo real positivo para influenza.

Se definió como caso de dengue a todo participante del estudio con resultados de RT-PCR en tiempo real positivo para dengue.

F. Procedimientos

Para fines de control, y para no sobrecargar al personal de los hospitales, con fondos del proyecto se contrató a médicos para cubrir la función de coordinadores del estudio. Ellos estaban facultados para examinar a los pacientes, entrevistar a los participantes; tenían acceso irrestricto a los documentos médicos. Los coordinadores identificaban diariamente a todas las personas que fueron hospitalizadas con enfermedad respiratoria aguda o sospecha de dengue durante el periodo del estudio.

Se consideraba que el caso era hospitalizado por enfermedad respiratoria aguda si presentaba alguno de los siguientes diagnósticos clínicos al ingreso (PAHO 2011):

Tos ferina (CIE-10: A37).

Laringitis y traqueitis aguda (CIE-10: J04).

Laringitis obstructiva aguda y epiglotitis (CIE-10: J05).

Influenza (CIE-10: J09, J10-J10.1, J10.8, J11-J11.1, J11.8).

Neumonía (cualquier causa o no definida): (CIE-10: J12-J12.9, J13-J18).

Bronquitis aguda (CIE-10: J20).

Bronquiolitis aguda (CIE-10: J21).

Infección respiratoria aguda baja no especificada (CIE-10: J22).

A cada persona identificada con alguno de estos diagnósticos, se le aplicaron los criterios de inclusión y exclusión para determinar si era elegible para el estudio. A cada persona que resultó elegible se le consideró como participante potencial en el estudio.

El investigador principal verificó el número de casos potenciales a ser inscritos a partir de la revisión semanal de los casos hospitalizados por enfermedades equivalentes a IRAG y casos sospechosos de dengue. También se verificó el recuento de los casos inscritos contrastado contra la bitácora de participantes seleccionados.

G. Consentimiento

A todos los participantes potenciales mayores de edad (≥ 18 años) se les solicitó su consentimiento escrito para participar en el estudio. A menores de edad (< 18 años) se les solicitó el consentimiento escrito a sus padres o tutores. Además del consentimiento informado, a los sujetos con edades entre los 7 y 17 años, que tuvieran la capacidad de dar su consentimiento, se les leyó el Formulario de Asentimiento y, si estaban de acuerdo, se les pidió que lo firmaren.

En caso de que alguno de los sujetos de estudio no estuvieran en condiciones de hablar debido a su condición clínica, se le solicitó el consentimiento escrito a su familiar más cercano presente. Al momento en el que el participante recobraba sus facultades cognoscitivas, se le debía realizar el proceso de consentimiento. No hubo ningún caso que, habiendo recobrado sus capacidades cognoscitivas, rechazara participar.

A las personas a quienes se les pidió el consentimiento escrito se les entregó una copia del Formulario de Consentimiento Informado. Se les solicitó que lo leyeran detenidamente. Si el participante lo solicitaba, un miembro del equipo le leía cuidadosamente el documento. Se les respondieron todas las dudas y preguntas que manifestaron, después de lo cual se les pidió que, si estaban de acuerdo, firmaren dicho formulario. A aquellos casos que, siendo participantes potenciales no dieron su consentimiento para participar en el estudio, se les registraron los siguientes datos: edad, sexo, fecha de inicio de síntomas y diagnóstico de ingreso.

El investigador principal realizó una supervisión cada 15 días para verificar que los procedimientos técnicos y éticos se realizaban adecuadamente.

H. Inscripción

Los coordinadores incluyeron en el estudio a todas las personas elegibles, que dieron su consentimiento escrito para participar. Se completó para cada participante la sección 1 del Formulario de recolección de datos, nominada “Datos de Inscripción del participante”. Una vez hecho esto se consideraba a la persona como participante del estudio y se finalizaba el proceso de enrolamiento de la población de estudio.

Cada semana, el investigador principal verificaba la cantidad de casos inscritos.

I. Toma de muestras y pruebas de laboratorio

A todos los sujetos incluidos se les tomaron las siguientes muestras:

Muestra respiratoria para diagnóstico de la influenza por RT-PCR

Muestra de sangre para diagnóstico del dengue por RT-PCR

1. Muestra respiratoria. Los coordinadores del estudio tomaron una muestra respiratoria por hisopados nasal y orofaríngeo a cada participante al momento de su enrolamiento. Si estaba disponible, esta muestra también podría ser tomada por el personal entrenado de los laboratorios de cada establecimiento, o por el personal de terapia respiratoria para aquellos casos con ventilación asistida a través del tubo endotraqueal. A todos los participantes que al momento de inscribirse en el estudio se encontrasen con ventilación mecánica se les tomó un aspirado endotraqueal. Si al momento del enrolamiento ya se habían tomado muestras respiratorias por hisopados nasal/orofaríngeo como parte del proceso de vigilancia centinela o intensificada de influenza, no se tomaron otras muestras respiratorias para propósitos del estudio a menos que las muestras hubieran sido inadecuadas.

Los hisopos se colocaban inmediatamente en un medio de transporte viral, fueron debidamente rotulados y se mantuvieron refrigerados a 4°C en el hospital por un tiempo no mayor a 72 horas. Luego se transportaron al Centro Nacional de Influenza (NIC) ubicado en el Laboratorio Central “Dr. Max Bloch”, en San Salvador, de acuerdo a las normativas vigentes para el traslado de muestras para detección de influenza. En el NIC estas muestras se almacenaron de acuerdo a las normativas nacionales, hasta su procesamiento. El NIC llevó a cabo pruebas de RT-PCR en Tiempo Real para Influenza para la identificación del virus de la influenza.

Las muestras resultantes serán almacenadas en el NIC hasta por 5 años después de los cuales serán destruidas de acuerdo a los procedimientos internacionales estándar de bioseguridad.

Cada 30 días, el investigador principal, verificó la proporción de muestras inadecuadas y reforzó la estrategia de toma de muestra.

2. Muestra de sangre. Los coordinadores del estudio indicaron que se tomaría una muestra de sangre junto a la toma de las muestras respiratorias, el proceso se realizó lo más simultáneamente posible, y nunca más allá de 6 horas de diferencia. El personal de enfermería designado recolectó una muestra de 3-5 ml de sangre venosa en un tubo sin anticoagulante. Esta muestra se centrifugó y separó del suero, el cual se envió en cadena de frío (entre 2°C y 8°C) al Laboratorio Nacional “Max Bloch” donde se procesó y se llevó a cabo las pruebas de RT-PCR en Tiempo Real para la identificación del virus del dengue.

En aquellos casos que, estando hospitalizados, sobrepasaren los 5 días de inicio de los síntomas, y que por su condición clínica el médico tratante lo considerase, también se les tomó una muestra de sangre para elaborar la prueba de ELSA para la detección de IgM o IgG. Esto se realizó fuera del protocolo de estudio, y dependía del criterio clínico o por motivos de la vigilancia epidemiológica. Los resultados de estas pruebas no fueron tomados en cuenta en este estudio.

Las muestras restantes fueron almacenadas en el Laboratorio Central “Max Bloch” y allí se conservarán hasta por 5 años después de los cuales serán destruidas de acuerdo a los procedimientos internacionales estándar de bioseguridad.

Cada 30 días, el investigador principal, verificó la proporción de muestras inadecuadas y reforzó la estrategia de toma de muestra.

J. Antibióticos

El uso de antibióticos restringidos durante la hospitalización también fue considerado como un parámetro de gravedad de los casos. Para esto se utilizó el “Listado Oficial de Medicamentos 10ª Versión” del Ministerio de Salud de El Salvador (Ministry of Health El Salvador 2009). Los siguientes antibióticos administrados se consideraron de uso restringido:

- Betalactámicos: Ceftazidima, Ceftriaxona, Dicloxacilina, Oxacilina.
- Betalactámicos con inhibidores de betalactamasa: Amoxicilina + ácido clavulánico, ampicilina + sulbactam.
- Betalactámicos carbapenémicos: Imipenem + cilastatina, meropenem.
- Lincosinamidas: Clindamicina.
- Quinolonas: Ciprofloxacina, levofloxacino.
- Glucopéptidos: Vancomicina.

K. Resultados de hematología

De manera rutinaria, en los cuatro hospitales del estudio, a los pacientes hospitalizados por IRAG o SD se les toma muestra sanguínea para la determinación de los valores hematológicos contenidos en el hemograma. Como parte del estudio se recabaron los datos de los hemogramas al ingreso, así como los datos de aquellos durante la hospitalización que se consideraron valores extremos interesantes para este estudio.

Los datos del hemograma interesantes para este estudio fueron los valores del hematócrito, leucocitos y plaquetas.

De estos interesaban los siguientes extremos: hematocrito más alto, leucocitos más bajos, leucocitos más altos, plaquetas más bajas. A continuación las categorías utilizadas:

Hematócrito elevado (Behrman et al. 2000).

De 3 meses a 5 meses de edad >41%.

De 6 meses a 6 años de edad >42%.

De 7 años a 12 años de edad >40%.

Adultos, Hombres >52%, Mujeres >47%.

Leucopenia (Ministry of Health El Salvador 2010b).

Leucocitos <5000 /mm³.

Leucocitosis (Behrman et al. 2000).

De 3 meses a 5 meses de edad, leucocitos >18,000/mm³.

De 6 meses a 6 años de edad, leucocitos >15,000/mm³.

De 7 años a 12 años de edad, leucocitos >13,500/mm³.

Adultos, leucocitos >10,000/mm³.

Trombocitopenia.

Límite inferior del valor de plaquetas 150,000 /mm³ (Schmaier 2008).

En dengue como parámetro clínico <100,000/mm³ (Behrman et al. 2000).

L. Recolección de los datos

Al momento del enrolamiento de cada participante, los coordinadores del estudio colectaron los datos clínicos/epidemiológicos de la enfermedad que motivó el ingreso y de los antecedentes de salud y atención clínica previa al ingreso. Estos datos fueron obtenidos a través de entrevista con el participante, entrevista con los padres/tutores o familiares del participante, revisión del expediente clínico y/o examen físico realizado por los coordinadores del estudio en caso de que lo considerasen necesario. Los datos a coleccionar fueron registrados en el Formulario de Recolección de Datos en las siguientes secciones:

Sección 1: Datos demográficos

Sección 2: Antecedentes de vacunación

Sección 3: Condiciones preexistentes

Sección 4: Atención médica previa al ingreso actual

Sección 5: Signos y síntomas (Subsección: Desde el inicio de los síntomas hasta el momento de la admisión)

El investigador principal revisó la completitud de los datos e identificación y corrección de incongruencias de todos los formularios una vez finalizados. Esta verificación se realizó al finalizar el estudio.

Al egreso hospitalario se realizó una revisión del expediente clínico para completar los datos de la hospitalización y para registrar los datos de condición de salida y diagnósticos finales. Los datos a coleccionar fueron registrados en el Formulario de Recolección de Datos en las siguientes secciones:

Sección 5: Signos y síntomas (Subsección: Durante la hospitalización).

Sección 6: Resultados de gabinete.

Sección 7: Medicamentos y productos sanguíneos.

Sección 8: Resultados de laboratorio.

Sección 9: Resultados de Microbiología.

Sección 10: Severidad de la enfermedad.

Sección 11: Resultados del ingreso.

Al finalizar el estudio, el investigador principal verificó los formularios finalizados para identificar y resolver datos faltantes o incongruencias.

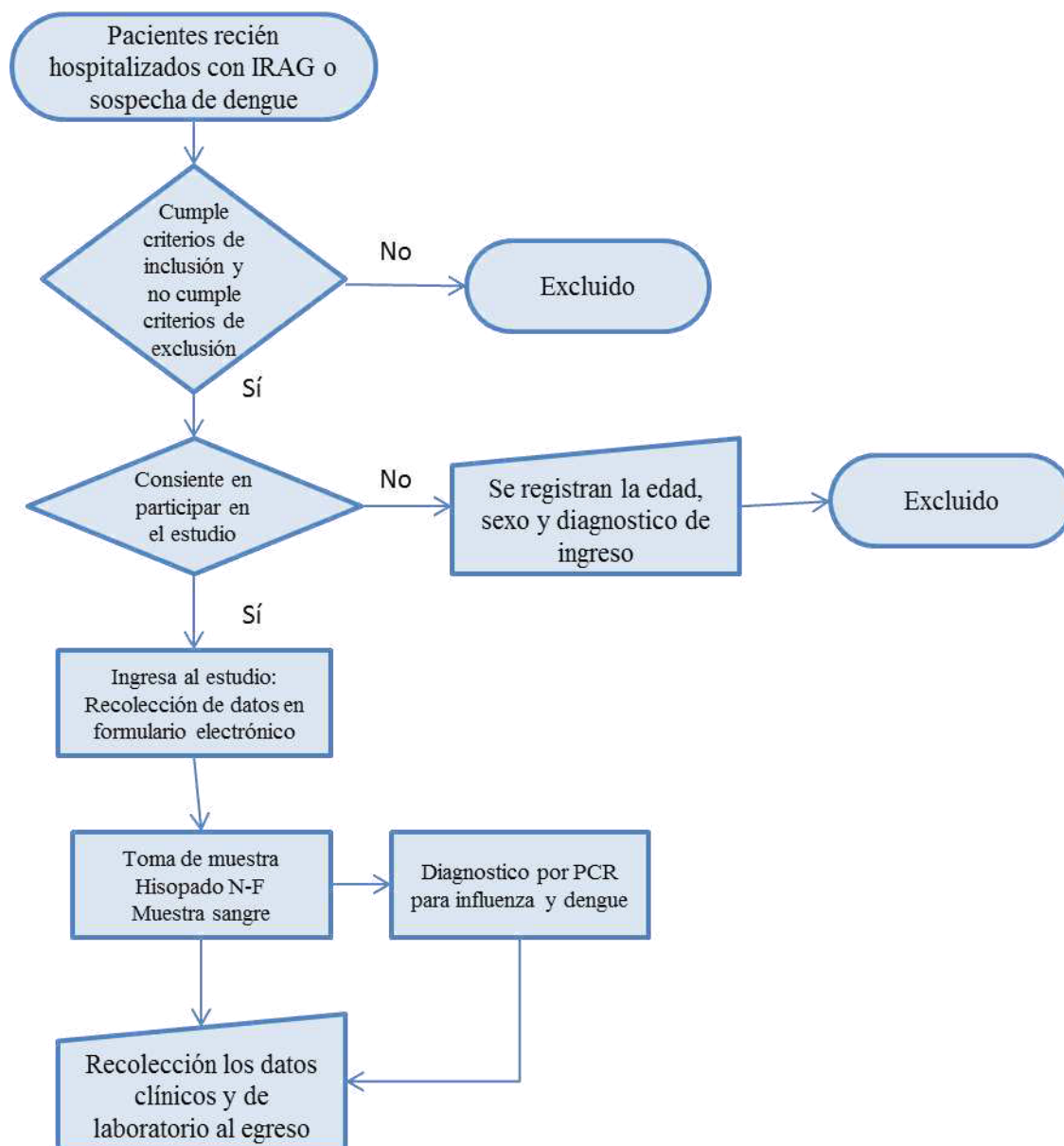
M. Almacenamiento, control de calidad y resguardo de los datos

Los datos fueron coleccionados a través de la aplicación CGDI (elaborado por el Centro para la Gestión de Datos de Investigación, plataforma ODK en JAVA) y almacenados en una base de datos electrónica en la misma plataforma. Se utilizaron Tablet View Sonic ViewPad 7.

El investigador principal auditó, al menos, el 20% de los formularios electrónicos de recolección de datos de los participantes para valorar la exactitud y completitud de los datos de los contrastados con los documentos fuente (expediente médico, registros de laboratorio y registros de radiología). No se encontraron incongruencias significativas durante esta revisión. Todos los consentimientos fueron auditados para asegurar una adecuada documentación y procesos.

La base de datos fue alojada en un servidor virtual propiedad del Centro para la Prevención y Control de Enfermedades, Región Centroamérica (CDC-CAR). Se guardaron todas las medidas de seguridad estándar para protección de bases de datos. El acceso a la misma fue jerarquizado. Solamente los investigadores principales han tenido, y tendrán acceso irrestricto a la base de datos.

Figura 2: Diagrama del flujo de las actividades para la inscripción, toma de muestra y manejo de la información del estudio



N. Análisis estadístico

Estimamos la prevalencia de infección concurrente entre la influenza y el dengue dividiendo el número de casos de infección concurrente influenza y dengue sobre el número total de participantes en el estudio. Se calculó el intervalo de confianza al 95%. Se realizó la descripción clínica y epidemiológica de los participantes del estudio utilizando tablas, figuras y medidas estadísticas de resumen: porcentajes en variables cualitativas, medias en variables continuas

simétricas y medianas en variables no simétricas. Se hizo una descripción exhaustiva de los casos de infección concurrente con influenza y dengue que se identificaron. Se compararon las variables demográficas y clínicas entre los participantes con infección respiratoria aguda grave y sospecha de dengue.

Elaboramos tablas de 2 x 2 para estimar la Razón de Momios (OR) entre las variables de resultado y el resto de principales variables, todas las estimaciones se acompañan con un intervalo de confianza del 95%, y la significación estadística se calculó mediante la prueba Chi^2 . Se utilizó el test de Fisher en aquellos casos donde una de las casillas de las tablas de 2x2 eran menor que 5.

Realizamos un análisis de sensibilidad y especificidad para comparar las capacidades de las definiciones de caso, tanto de infección respiratoria aguda grave como de sospecha de dengue para identificar casos de influenza. Para este cálculo contrastamos cada una de las definiciones de caso, ya sea de infección respiratoria aguda grave o sospecha de dengue, rotándolas y colocándolas como estándar de oro, con el número de casos positivos y negativos, ya sea a influenza o dengue por rRT-PCR. Aprovechando este esfuerzo realizamos la comparación de la probabilidad de las diversas definiciones de caso para obtener un resultado positivo (valor predictivo positivo).

Para evitar la influencia de la prevalencia también realizamos la razón de verosimilitud positiva, la cual se calculó al dividir la probabilidad de un resultado positivo en los pacientes enfermos entre la probabilidad de un resultado positivo entre los sanos, es decir el cociente entre la fracción de verdaderos positivos (sensibilidad) y la fracción de falsos positivos (1-especificidad).

Todos estos índices se interpretaron de la siguiente manera: un valor de sensibilidad comparativamente más alto quiere decir que dicha definición de caso tiene mayor capacidad para identificar casos positivos, ya sea de influenza o dengue. Respecto a la especificidad, entre mayor sea el valor comparativo significará que la definición de caso tienen mayor capacidad de identificar casos negativos entre los individuos negativos ya sea a influenza o dengue. El valor predictivo positivo se interpretó de la siguiente manera: si el valor comparativo es más alto, significa que la definición de caso contrastada tiene mejor capacidad para obtener un resultado positivo a influenza o dengue en los que si presentaban dicha definición. La razón de verosimilitud se interpretó que a mayor valor, la definición de caso es mejor para la identificación de los casos de influenza o dengue, con respecto a la que se compara. En la razón de verosimilitud se interpretó que por cada elevación de la unidad, se consideró n veces más probable a la prueba de contraste de identificar casos de influenza o dengue según corresponda. Se consideró un valor de la razón de verosimilitud mayor de 4 como el punto de corte para

identificar a las definiciones de caso con mejores probabilidades de detección de caso de influenza o dengue.

Se utilizó el software estadístico SPSS 15.0, STATA 11.0 y EpiDat 3.1.

Ñ. Consideraciones éticas

El protocolo del estudio contó con el aval tanto del Comité de Ética en Investigación de la Universidad del Valle de Guatemala (como institución promotora del estudio), como del Comité Nacional de Investigación Clínica de El Salvador.

Todos los sujetos admitidos en el estudio (o sus padres o tutores en caso de menores de edad) dieron su consentimiento firmado, y en aquellos menores de edad, pero mayores de 6 años de edad también se les solicitó su asentimiento en el caso tuvieran las facultades para hacerlo.

A los participantes, padres/tutores o familiares se les informó que eran libres de terminar su participación en el estudio en cualquier momento y que el retiro del estudio no conllevaría ninguna sanción o censura y no afectaría de ninguna manera el manejo médico o el tratamiento en la presente ni en futuras atenciones.

Los malestares potenciales que se preveía podían presentarse, debido a la participación en este estudio, incluyeron la toma de hisopados nasal/nasofaríngeo y la toma de muestra de sangre venosa. No se reportaron lesiones o molestias distintas a los esperados en este estudio. Estas consistieron en un mínimo malestar mientras se les tomaban los hisopados nasal y faríngeo, así como una sensación de ardor en el punto en el que se introducía la aguja en la piel durante la extracción de sangre.

Los formularios de consentimiento informado de los participantes se almacenaron en archivos resguardados en las Unidades de Epidemiología de cada hospital. Una vez finalizado el proceso de recolección de información, los formularios de consentimiento informado se trasladaron a las oficinas de la Unida de Influenza y otras Emergencias en Salud Pública del Centro de Estudios en Salud de la Universidad del Valle de Guatemala.

Para proteger la confidencialidad de los participantes, a cada sujeto se le asignó un número único de identificación en el estudio que sólo fue usado para propósitos del mismo. Sólo los investigadores en el sitio del estudio en donde el participante se inscribió, en la UVG se conoce quiénes son los participantes y cuál es el número que los identifica.

El documento que contiene los números que vinculan al participante del estudio con su nombre, está resguardado bajo llave por el investigador principal. Mantendremos una base de datos centralizada con toda la información recolectada como parte del estudio, la cual estará protegida en un servidor con contraseña. La base de datos contendrá los enlaces entre los

identificadores personales y el identificador único del estudio. Sólo el investigador principal tiene acceso a los datos que vinculan los identificadores del estudio y los datos de identificación personal en la base de datos protegida con contraseña.

Los resultados de las pruebas para el virus de la influenza y dengue fueron reportados oportunamente al Ministerio de Salud de acuerdo con las normas nacionales establecidas de reporte.

Todos los especímenes biológicos humanos, recolectados como parte del estudio, se utilizaron únicamente para el diagnóstico de la influenza y el dengue, tanto en el marco del estudio, como para los efectos de la vigilancia de influenza y dengue del Ministerio de Salud de El Salvador. Estas muestras están guardadas en un congelador en el Laboratorio Central Dr. Max Bloch por si se diera el caso que se requiera control de calidad e identificación de cepas en el contexto de la vigilancia epidemiológica de la influenza y el dengue. Los datos generados por estos especímenes no estarán disponibles para personas o instituciones o terceras partes que no estén involucradas directamente en el protocolo a menos que sea especificado de otra manera por el participante. Los especímenes almacenados no se venderán a terceros para su uso en otras investigaciones.

O. Financiamiento

Este estudio fue financiado a través del Acuerdo cooperativo entre la Oficina Regional de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos para América Central (CDC-CAR) y la Universidad del Valle de Guatemala – Centro de Estudios en Salud (CES).

Los Centros para el Control y la Prevención de las Enfermedades (CDC) han determinado que no están comprometidos (CDC - Not Engaged) con el estudio. Esto implica que los funcionarios de CDC en ningún momento tendrán acceso a información privada de los participantes. CDC ha indicado que los colaboradores deberán guardar todos los requisitos éticos de protección a sujetos humanos de acuerdo las regulaciones federales.

III. RESULTADOS

Del 5 de julio al 30 de septiembre de 2012, en los cuatro hospitales participantes, 14,633 pacientes fueron ingresados por todas las causas. El 10% (1,494 sujetos), ingresaron por diagnósticos compatibles con IRAG (1,085 casos, 73%) o SD (409 casos, 27%). (Figura 3) De estos, 687 casos (46%) cumplieron con los criterios de inclusión, los cuales se distribuyeron entre 397 casos de IRAG (58%) y 290 sospechosos de dengue (42%). De los casos que cumplían criterios de inclusión (687 casos) fueron excluidos el 44% (295 casos) resultando 392 sujetos elegibles (244 casos de IRAG (62%) y 148 casos de SD (38%)). Los excluidos fueron 153 casos de IRAG (52%) y 142 casos de SD (48%). La razón de su exclusión fue el presentar más de 5 días de inicio de síntomas al momento del enrolamiento. Un 13% (52 sujetos de los 393 elegibles) de los casos rechazaron participar en el estudio (31 de IRAG y 21 de SD). Se inscribieron un total de 340 sujetos (213 casos de IRAG y 127 casos con SD). De los 340 sujetos inscritos, en 19 de los casos no se logró procesar al menos una de las muestras (15 casos de IRAG y 4 casos de SD). Se incluyó el 94% de los casos inscritos (321 de los 340 inscritos), de los cuales 198 de los 213 casos de IRAG (93%) y 123 de los 127 casos con SD (97%). De los 321 casos incluidos para los análisis, un total de 46 casos (14%) fueron positivos al virus de la influenza (21 ingresados por IRAG y 25 por SD) y 41 casos (13%) positivos al virus del dengue (5 ingresados por IRAG y 36 ingresados por SD), de los cuales 3 casos (0.9%) presentaron infección concurrente influenza-dengue.

Al comparar el sexo, los grupos de edad y el hospital de internación, entre el grupo de incluidos (321 casos) y los no analizados (los 52 casos que rechazaron más los 19 casos que no tenían todas las muestras procesadas), encontramos que era significativa la diferencia entre los grupos de sexo. (Tabla 4) La diferencia de sexo también se manifestó al estratificar según su clasificación al ingreso, siendo más predominante el sexo femenino tanto en el grupo de casos de IRAG como en los de SD. Utilizando el Hospital de Santa Ana como grupo de referencia, encontramos una diferencia significativa de la distribución de los casos admitidos vs los no analizados con el Hospital de Cojutepeque: OR= 0.4 (0.2-0.9). En este hospital la proporción de rechazo llegó a ser del 30%, en cambio en el resto de hospitales fue del 16%. No se encontró diferencia en los grupos de edad.

Figura 3. Distribución de los casos inscritos y sus resultados diagnósticos partiendo de un total de 14,633 ingresos en los 4 hospitales.

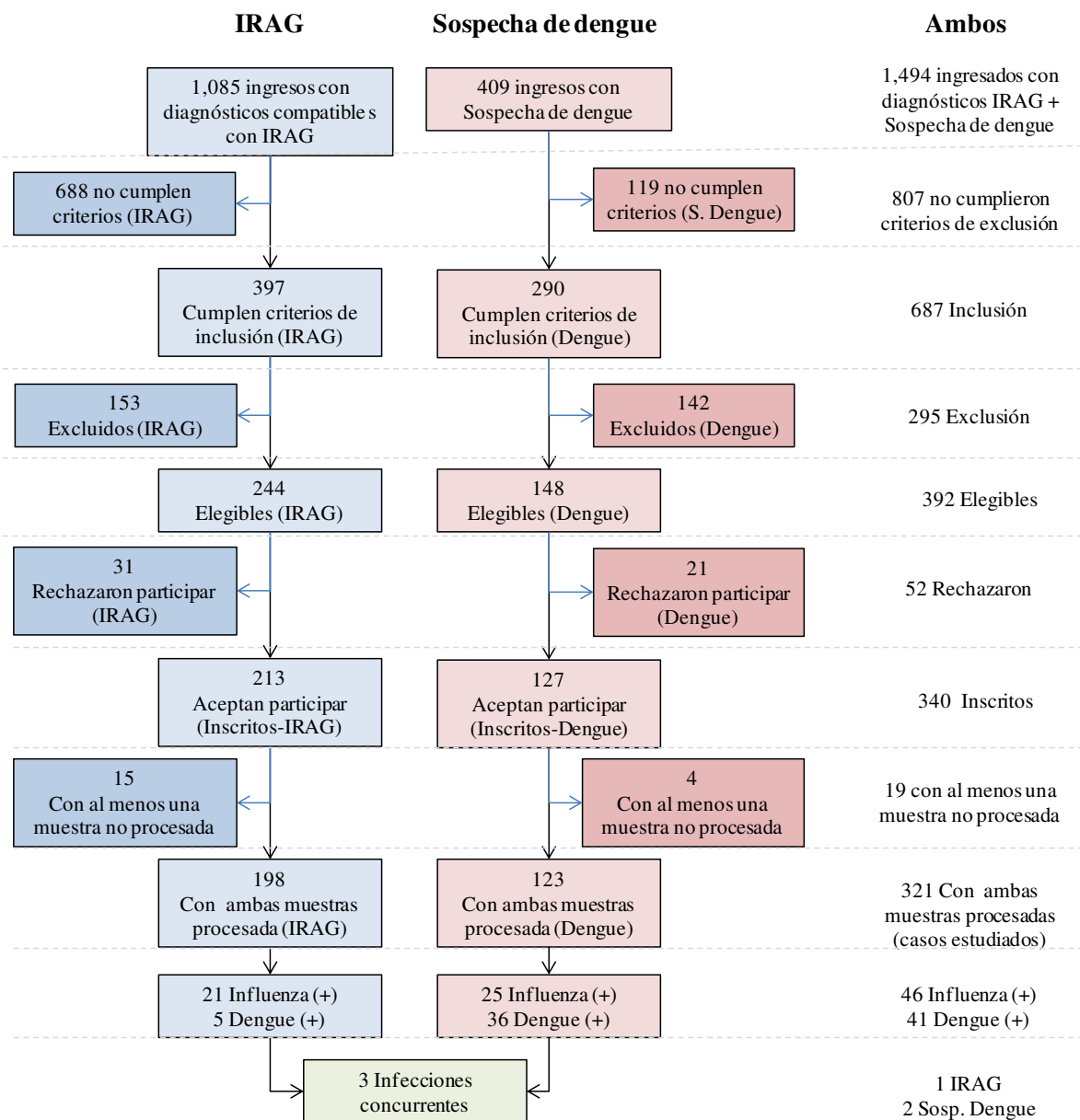


Tabla 4. Diferencias entre los casos que aceptaron/rechazaron participar.

	Incluidos (n=321)		No analizados ^a (n= 71)		Estadísticos
	Casos	%	Casos	%	
Sexo					
Femenino	162	86%	26	14%	OR = 1.8 (1.0-3.0)*
Masculino	159	78%	45	22%	Referencia
Clasificación					
IRAG	198	81%	46	19%	OR= 0.9 (0.5-1.5)
Dengue	123	83%	25	17%	Referencia
IRAG y sexo					
Femenino	93	83%	19	17%	OR= 1.2 (0.7-2.4)
Masculino	105	80%	27	20%	Referencia
Sosp. Dengue y sexo					
Femenino	69	91%	7	9%	OR= 3.2 (1.3-8.9)*
Masculino	54	75%	18	25%	Referencia
Edad^b [Me=9.7 (P25= 0.9, P75= 10.8) (Li= 0.1, Ls= 91.0)]					
>28 días y <1 año	83	26%	18	25%	OR= 0.8 (0.3-1.9)
1-4 años	104	32%	23	32%	OR= 0.8 (0.3-1.8)
5-9 años	43	13%	17	24%	OR= 0.4 (0.2-1.1)
10-19 años	53	17%	9	13%	Referencia
20-64 años	21	7%	4	6%	OR= 0.9 (0.2-3.7)
65 o más años	17	5%	0	0%	OR= no definido
Hospital					
H. Bloom ^b	66	84%	13	16%	OR= 0.9 (0.5-2.1)
H. Santa Ana	121	84%	23	16%	Referencia
H. San Miguel	95	84%	18	16%	OR= 1.0 (0.5-2.0)
H. Cojutepeque	39	70%	17	30%	OR= 0.4 (0.2-0.9)*

[RG] Referencia del grupo, ^a Está constituido por 52 sujetos que rechazaron y 19 sujetos inscritos que no se les procesó al menos una de las dos muestras (PCR influenza o PCR dengue). ^b Las edades no se distribuyen normalmente (Kolmogorov-Smirnov, $p = 0.00$) ^bHospital pediátrico de referencia nacional.
* $p < 0.05$

De los 321 sujetos analizados, el 50.5% (162 casos) eran del sexo femenino. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el sexo femenino vs masculino y su clasificación al ingreso (IRAG o SD): OR= 0.7 (0.4-1.1). (Tabla 5) Respecto a los grupos de edad, predominaron los casos en los menores de 5 años en aquellos clasificados como IRAG; en cuanto a los sospechosos de dengue hubo mayor predominio en los grupos de edad entre los 5 y 19 años de edad. Utilizando el grupo de 10-19 años de edad como grupo de referencia, encontramos diferencia significativa entre los grupos de edad y la clasificación al ingreso.

Tabla 5. Sujetos inscritos de acuerdo al sexo, grupos de edad, hospital y confirmación diagnóstica.

	Clasificación al ingreso				OR
	IRAG n= 198		Sospecha de dengue n= 123		
	Casos	%	Casos	%	
Sexo					
Femenino	93	47.0%	69	56.1%	OR = 0.7 (0.4-1.1)
Masculino	105	53.0%	54	43.9%	RG
Edad^a [Me=2.5 (P ₂₅ = 0.9, P ₇₅ = 11.0) (Li= 0.1, Ls= 91.0)]; rango 1 mes a 91 años					
>28 días y <1 año	74	37.4%	9	7.3%	OR = 127.0 (36.1-605.7)*
1-4 años	87	43.9%	17	13.8%	OR = 81.5 (25.0-363.4)*
5-9 años	11	5.6%	32	26.0%	OR = 5.6 (1.5-26.8)*
10-19 años	3	1.5%	50	40.7%	RG
20-64 años	6	3.0%	15	12.2%	OR = 6.5 (1.4-35.0)*
65 o más años	17	8.6%	0	0.0%	OR = no definido
Condicion médica preexistente^b					
Con alguna	61	30.8%	11	8.9%	OR= 4.5 (2.3-9.4)*
Sin condición	137	69.2%	112	91.1%	RG
Hospital					
H. Bloom ^c	34	17.2%	32	26.0%	OR = 0.6 (0.3-1.1)
H. Santa Ana	78	39.4%	43	35.0%	RG
H. San Miguel	60	30.3%	35	28.5%	OR = 0.9 (0.5-1.7)
H. Cojutepeque	26	13.1%	13	10.6%	OR = 1.1 (0.5-2.4)

[RG] Referencia del grupo. ^a Las edades no se distribuyen normalmente (Kolmogorov-Smirnov, p = 0.00) ^b Comparado con los casos sin condición médica preexistente. ^c Hospital pediátrico de referencia nacional. *p< 0.05

En cuanto a la distribución de las condiciones médicas preexistentes en los dos grupos encontramos que predominaron en el grupo de IRAG (30.8%) vs al de SD (8.9%). Al utilizar como referencia los casos sin condición médica preexistente encontramos una diferencia significativa entre la presencia o no de condiciones médicas preexistentes entre los grupos de IRAG y SD: OR= 4.5 (2.3-9.4). (Tabla 5) Las condiciones médicas preexistentes más prevalentes en el grupo de IRAG fueron las cardiopatías congénitas (9.1%), seguida de la Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (8.1%), la desnutrición (6.6%), y el asma (6.1%). Las condiciones médicas preexistentes más prevalentes en el grupo de SD fueron la obesidad (3.3%), seguido por la disfunción cognitiva (2.4%) y las cardiopatías crónicas (1.6%). Se incluyeron en el análisis 3 embarazadas (1 en el grupo de IRAG y 2 en el grupo de SD).

El Hospital de Santa Ana fue el que presentó la mayor proporción de casos aptos para el análisis (37.7%) seguido por el hospital de San Miguel (29.6%), el Hospital Bloom (20.6%) y el Hospital de Cojutepeque (12.1%). Utilizando el Hospital de Santa Ana como grupo de referencia,

no se encontró diferencia significativa entre los hospitales de internación y la clasificación al ingreso. (Tabla 5)

Tabla 6. Resultados de PCR para influenza y dengue según grupo de clasificación al ingreso

Definición de caso	Resultados de laboratorio de RT-PCR			
	Influenza (+)		Influenza (-)	
	Dengue (+) (Co-infection)	Dengue (-)	Dengue (+)	Dengue (-)
IRAG	1/198 (0.5%) IC95% [0.2-2.7%]	20/198 (10%) IC95% [6-14%]	4/198 (2%) IC95% [0-4%]	173/198 (88%) IC95% [83-92%]
Sospecha de dengue	2/123 (1.6%) IC95% [0-4%]	23/123 (19%) IC95% [12-26%]	34/123 (28%) IC95% [20-36%]	64/123 (52%) IC95% [43-61%]

De los 321 casos aptos para el análisis, 46 casos (14%, IC95% = 11-19%) fueron positivos por PCR para virus de la influenza y 41 casos (13%, IC95% = 9-17%) fueron positivos por PCR para virus del dengue. Encontramos que 3 casos (0.9%, IC95% = 0.2-2.7%) presentaban infección concurrente influenza-dengue. De los 198 casos clasificados a su ingreso como IRAG, 20 casos (10%) fueron positivos a influenza y 4 casos (2%) fueron positivos a dengue. De los 123 casos clasificados a su ingreso como SD, 23 casos (19%) fueron positivos a influenza y 34 casos (28%) fueron positivos a dengue. Dos de los casos de infección concurrente influenza-dengue fueron clasificados a su ingreso como SD y uno como IRAG. De los 321 casos analizados, 237 (74%) fueron negativos a virus de influenza y dengue por PCR. De estos el 88% (173 casos) de los 198 casos clasificados al ingreso como IRAG fueron negativos al virus de influenza y del dengue por PCR; 52% (64 casos) de los 123 casos clasificados al ingreso como SD fueron negativos al virus de influenza y del dengue por PCR. (Tabla 6)

Durante el año 2012, en los cuatro hospitales participantes, fueron confirmados por RT-PCR, 164 casos de influenza y 156 casos de dengue (incluido un número indeterminado de casos ambulatorios atendidos por ambas enfermedades). Nuestro estudio contribuyó con el 28% (46/164) de los casos confirmados de influenza y 26% (41/156) de los casos confirmados de dengue a estos cuatro hospitales.

De los 43 casos positivos a influenza (no infección concurrente), 2 (5%) fueron positivos para influenza A H1N1 y 41 (95%) a influenza B. De los 38 casos positivos a dengue (no infección concurrente), 17 (45%) eran por DEN1, 14 (37%) por DEN2 y 7 (18%) por DEN3. No se encontraron casos positivos a DEN4. De los 3 casos de infección concurrente de influenza-

dengue, los tres fueron positivos para la influenza B; uno de ellos coincidió con DEN1 y dos con DEN3.

De los 213 casos clasificados como IRAG, el 95% (203 casos) tenían una enfermedad respiratoria como diagnóstico de admisión, el 3% (7 casos) tenían diagnóstico de dengue durante la admisión y 1% (3 casos) tenían otro diagnóstico. De los 127 casos clasificados como SD, el 93% (118 casos) tenían dengue como diagnóstico de admisión, el 4% (5 casos) tenían un diagnóstico una enfermedad respiratoria y 3% (4 casos) tenían otro diagnóstico. Uno de los casos con diagnóstico de admisión de dengue fue reclasificado como IRAG, el cual resultó positivo a influenza; los restantes 6 reclasificados de dengue a IRAG resultaron negativos. De los 125 casos que tenían dengue como diagnóstico de admisión, 23 casos (18%) resultaron positivos a influenza y 30 casos (24%) resultaron positivos a dengue. De los 208 casos con diagnóstico de enfermedad respiratoria, 5 casos (2%) resultaron positivos a dengue y 18 casos (9%) resultaron positivos a influenza.

Tabla 7. Características de sensibilidad y especificidad de las clasificaciones al ingreso para identificar casos confirmados de influenza y dengue

	Diagnóstico		Sensibilidad		Especificidad		Valor predictivo positivo		Razon de verosimilitud (+)	
			%	IC 95%	%	IC 95%	%	IC 95%	%	IC 95%
IRAG para identificar influenza (+)	Influenza (+)	Influenza (-)	11	(6.6-15.8)	80	(71.5-86.4)	45.7	(30.9-61.0)	0.5	(0.3-0.9)
IRAG	21	177								
Dengue	25	98								
IRAG para identificar dengue (+)	Dengue (+)	Dengue (-)	2.5	(0.8-5.8)	70.7	(61.9-78.6)	12.2	(4.1-26.2)	0.1	(0.03-0.21)
IRAG	5	193								
Dengue	36	87								
Sosp. Dengue para identificar influenza (+)	Influenza (+)	Influenza (-)	20.3	(13.6-28.5)	89.4	(84.2-93.3)	54.4	(39.0-69.1)	1.9	(1.1-3.3)
Dengue	25	98								
IRAG	21	177								
Sosp. Dengue para identificar dengue (+)	Dengue (+)	Dengue (-)	29.3	(21.4-38.1)	97.5	(94.2-99.2)	87.8	(73.8-95.9)	11.6	(4.7-28.7)
Dengue	36	87								
IRAG	5	193								

Encontramos que, del grupo de febriles analizados (IRAG y SD), la sensibilidad de la clasificación de los casos para identificar los casos positivos fue diferente. Por ejemplo la capacidad de identificar casos positivos a influenza del grupo de IRAG fue del 10.6% (6.6%-15.8%), y la de los sospechosos de dengue para identificar influenza fue de 20.3% (13.6%-28.5%). La razón de verosimilitud positiva para identificar los casos positivos a influenza de los casos clasificados como IRAG fue de 0.5 (0.3-0.9), mientras que la de los casos sospechosos de dengue para identificar influenza positivos fue de 1.9 (1.1-3.3). La sensibilidad de la clasificación

de los sospechosos de dengue para identificar casos positivos a dengue por PCR fue de 29.3% (21.4%-38.1%) con una razón de verosimilitud positiva de 11.6 (4.7-28.7). (Tabla 7).

Tabla 8. Síntomatología respiratoria o de dengue según clasificación al ingreso y confirmación diagnóstica

Síntomatología agrupada	Resultado diagnóstico							
	Solo Influenza (+)		Solo Dengue (+)		Infección concurrente influenza-dengue		Influenza (-) y dengue (-)	
	Casos	%	Casos	%	Casos	%	Casos	%
Todos								
Total de casos (N= 321) ^a	43	13%	38	12%	3	1%	237	74%
Síntomatología Respiratoria ^{b,c}	34	79%	9	24%	2	67%	189	80%
Síntomatología de Dengue ^{b,d}	23	53%	31	82%	2	67%	59	25%
IRAG								
Casos de IRAG (n= 198) ^e	20	10%	4	2%	1	1%	173	87%
Síntomatología Respiratoria ^{b,c}	20	100%	4	100%	1	100%	173	100%
Síntomatología de Dengue ^{b,d}	4	20%	0	0%	0	0%	9	5%
Sospecha de dengue								
Sospecha de dengue (n= 123) ^f	23	19%	34	28%	2	2%	64	52%
Síntomatología Respiratoria ^{b,c}	14	61%	5	15%	1	50%	16	25%
Síntomatología de Dengue ^{b,d}	19	83%	31	91%	2	100%	50	78%

^a Porcentajes del total de casos, ^b Porcentaje del total de los casos según resultado diagnóstico. ^c Síntomatología respiratoria: tos, ronorrea, congestión nasal, dificultad respiratoria, estornudos, estertores crepitantes o sibilantes. ^d Porcentaje del resultado diagnóstico de los casos con sintomatología de dengue respecto al total de casos según su nivel (Todos, IRAG o Dengue). ^e Síntomatología de dengue identificados: fiebre súbita más dos o más de las siguientes: dolor retroocular, sangrado, trombocitopenia, exantema, dolor abdominal o fuga capilar. ^f Prevalencia del resultado diagnóstico de acuerdo a su clasificación al ingreso, ya sea IRAG o Sospecha de dengue

De los 43 casos positivos a influenza por PCR (Excluidos los 3 casos de infección concurrente influenza-dengue) el 79% (34 casos) presentaban sintomatología respiratoria y 53% (23 casos) presentaban sintomatología de dengue. (Tabla 8) De los 38 casos positivos a dengue por PCR (Excluidos los 3 casos de infección concurrente influenza-dengue) el 24% (9 casos) presentaban sintomatología respiratoria y 82% (31 casos) presentaban sintomatología de dengue. De los 23 casos clasificados a su ingreso como SD (excluidos 2 casos de infección concurrente influenza-dengue) y que resultaron positivos a influenza, el 61% (14 casos) presentaban sintomatología respiratoria. (Tabla 8). Esta consistía en uno o más de los siguientes síntomas

respiratorios: tos, odinofagia, rinorrea, congestión nasal, estornudos, dolor de pecho, dificultad para respirar, estertores crepitantes o sibilantes.

Al analizar la sintomatología presentada por los cuatro casos clasificados al ingreso como IRAG que resultaron positivos a dengue por PCR encontramos que todos los casos presentaban al menos un síntoma respiratorios, siendo más prevalentes la tos, congestión nasal, disnea y estornudos.

Independientemente de su clasificación al ingreso, en aquellos casos positivos por PCR para influenza, comparado con los casos positivos a influenza (excluidos los 3 casos de infección concurrente influenza-dengue), fue significativa la presencia de rinorrea, congestión nasal, estornudos, dificultad respiratoria y tos; también fue significativa para este grupo la presencia de patrón alveolo-intersticial. Por otro lado, para aquellos casos positivos a dengue por PCR comparados con los casos positivos a influenza fueron significativas la presencia de exantema y trombocitopenia. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los casos positivos a influenza y dengue respecto a los criterios de gravedad.

En cuanto a los resultados de estudios radiológicos encontramos que, de los 43 casos positivos solo a influenza, solamente 26 (60%) tenían un reporte de radiografía de tórax, ya sea a su ingreso o durante la hospitalización. De estos 26 casos con reporte de radiografía, en 6 casos (23%) se identificó una consolidación pulmonar, en 7 casos (27%) un patrón alvéolo-intersticial (mixto) y a 5 casos (19%) un patrón intersticial. No encontramos derrame paraneumónico en los sujetos positivos solo a influenza con radiografía de tórax. De los 38 casos positivos solo a dengue, solamente 28 (74%) tenían un reporte de radiografía de tórax, ya sea a su ingreso o durante la hospitalización. De estos 28 casos con reporte de radiografía, en 4 casos (14%) se identificó una consolidación pulmonar, en 4 casos (14%) se identificó derrame paraneumónico y a 4 casos (14%) un patrón intersticial. No encontramos un patrón alvéolo-intersticial (mixto) en los sujetos positivos solo a dengue con radiografía de tórax.

Hubo 5 casos que, habiendo ingresado como IRAG, fueron egresados como dengue (dengue o dengue grave); dos de estos fueron positivos a influenza. (Tabla 9) Hubo 11 casos clasificados como SD a su ingreso que egresaron con diagnósticos de equivalentes de IRAG; de estos 9 casos fueron positivos a influenza. De los 99 casos que ingresaron como SD y que egresaron con diagnóstico de dengue (dengue o dengue grave), encontramos 14 casos que fueron positivos a influenza por PCR.

Tabla 9. Diagnósticos al egreso y confirmación diagnóstica según clasificación al ingreso

Diagnóstico de egreso	CIE-10	Clasificación al ingreso como IRAG						Clasificación al ingreso como Sospecha de Dengue					
		Todos		Solo Influenza (+)		Solo Dengue (+)		Todos		Solo Influenza (+)		Solo Dengue (+)	
		Casos	%	Casos	%	Casos	%	Casos	%	Casos	%	Casos	%
Dengue	(A90-A91)	5	2.3%	2	10.0%	1	25.0%	99	78.0%	14	60.9%	32	100.0%
Enfermedad febril no especificada	(B34.9)	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	16	12.6%	0	0.0%	0	0.0%
Infección respiratoria aguda	(J05), (J09-J10.2), (J12.0-J12.9), (J15.9), (J18.0-J18.9), (J21)	180	84.5%	18	90.0%	2	50.0%	11	8.7%	9	39.1%	0	0.0%
EPOC	(J44.1)	9	4.2%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
Broncoespasmo*	(J45, J45.9)	18	8.5%	0	0.0%	1	25.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
Otros diagnósticos**	(J96.0, B16.9)	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.8%	0	0.0%	0	0.0%
Total		213		20		4		127		23		32	

*Asma bronquial / crisis asmática / broncoespasmo, **Insuficiencia respiratoria aguda y hepatitis viral

Encontramos que la mediana de los días de estancia de los casos ingresados como IRAG fue superior a aquellos ingresados como SD (5 vs 3 días respectivamente). Una vez realizado el diagnóstico, la mediana de días de estancia fue similar entre los casos confirmados como dengue por PCR respecto a aquellos confirmados para influenza (4 días).

A. Casos de infección concurrente

Uno de los 20 (5%) casos ingresados por IRAG y positivos a influenza resultó con infección concurrente influenza-dengue. Dos de los 36 (6%) casos ingresados por SD y positivos a dengue resultaron con infección concurrente influenza-dengue.

Caso 1: Niña de 4 años de edad, que se ingresó al hospital por SD. Presentó fiebre como síntoma inicial. Fue ingresada al tercer día de iniciado los síntomas. No recibió la vacuna de la influenza en el último año. Desde antes de ser hospitalizada, y durante la hospitalización presentó tos con producción de esputo. También presentó mialgias y artralgias y sangrado espontáneo leve. La radiografía de tórax no mostró hallazgos anormales. No presentó trombocitopenia. No se tomó USG. No se le administró oseltamivir. No requirió cuidados intensivos. Egresó viva al segundo día de estancia. (Tabla 10).

Caso 2: Niño de 1 mes de edad que ingresó al hospital por IRAG. Presentó fiebre como síntoma inicial. Fue ingresado al segundo día de iniciado los síntomas. Antes de ser hospitalizado presentó cianosis, tos seca, dificultad para respirar y estertores crepitantes. Durante la hospitalización continuó la tos seca y los estertores crepitantes. La radiografía de tórax presentó un patrón alveolo-intersticial (mixto), el cual se mantuvo en radiografía tomada durante la hospitalización. No presentó trombocitopenia. No se le tomó USG. No se le administró oseltamivir. No requirió cuidados intensivos. Egresó vivo al segundo día de estancia. (Tabla 10).

Caso 3: Niña de 7 años de edad que ingresó al hospital por SD. Ella recibió una dosis de la vacuna de influenza estacional en 2008. Presentó fiebre como síntoma inicial. Fue ingresada al cuarto día de iniciado los síntomas. No manifestó síntomas respiratorios antes de ser hospitalizada. Presentó escalofríos, debilidad, cefalea, mialgias/artralgias, dolor de pantorrillas, vómitos, estado mental alterado, prueba de lazo (o torniquete) positiva, disminución de la diuresis y dolor abdominal. Durante la hospitalización continuó la misma sintomatología, excepto por el vómito, el dolor abdominal y la disminución de la diuresis. Presentó trombocitopenia (plaquetas $<100,000/\text{mm}^3$). No se le tomó radiografía de tórax ni USG. No se le administró oseltamivir. No requirió cuidados intensivos. Egresó viva al quinto día de estancia. (Tabla 10).

B. Fallecidos

Seis (1.9%) de los 321 sujetos inscritos fallecieron durante su estancia hospitalaria. De estos 5 se clasificaron como IRAG al ingreso (uno de ellos fue positivo a PCR para influenza) y 1 como SD que también resultó positivo a PCR para dengue.

Ninguno de los fallecidos recibió la vacuna de la influenza en el último año. Cuatro casos pertenecían al sexo femenino. Cinco de los casos presentaban alguna condición médica pre-existente, siendo la más prevalente las enfermedades cardíacas crónicas.

C. Embarazadas

Tres casos estaban en proceso de gestación al momento de la hospitalización. Dos de ellas eran adolescentes, y una de 18 años de edad. Una de ellas se clasificó como IRAG al ingreso, y también resultó positiva a PCR para influenza. Las otras dos se ingresaron como SD (una de ellas resultó positiva a PCR para dengue). Ninguna de ellas resultó fallecida. Ninguna recibió la vacuna de la influenza en el último año. Dos de ellas continuaban embarazadas al momento del egreso. Ninguna de ellas falleció durante la hospitalización. Una de ellas desarrolló trabajo de parto sin complicaciones, el neonato nació sano.

D. Uso de Antibióticos

De los 321 sujetos inscritos, 175 (54.5%) recibieron algún antibiótico durante su hospitalización; a 81 (25.2%) de ellos, alguno de los antibióticos que se les administró, se consideraron de uso restringido. De los 43 casos positivos a influenza (excluidos los casos con infección concurrente influenza-dengue), el 44.2% (19 sujetos) recibieron algún antibiótico; de estos, el 20.9% recibieron algún antibiótico restringido. De los 38 casos positivos a dengue

(excluidos los casos con infección concurrente influenza-dengue), el 18.4% (7 sujetos) recibieron algún antibiótico; de estos, el 5.3% (2 sujetos) recibieron algún antibiótico restringido.

Tabla 10. Principales hallazgos de los casos de coinfección influenza-dengue

Variable de interés	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Hospital	H. Bloom	H. Cojutepeque	H. San Miguel
Sexo	Femenino	Masculino	Femenino
Edad Calculada	4 años	1 mes	7 años
Vacuna influenza	No	No	Una doSís en 2008
Recibió lactancia materna	Sí	Sí	Sí
Clasificación al ingreso	Sospecha de dengue	IRAG	Sospecha de dengue
Diagnóstico de egreso	Dengue grave	Bronquiolitis	Dengue grave
Condicion al egreso	Vivo	Vivo	Vivo
Síntomas hasta la admisión			
Síntoma inicial	Fiebre	Fiebre	Fiebre
Escalofríos	--	--	Sí
Fatiga/debilidad	--	--	Sí
Cefalea	--	--	Sí
Mialgias/artralgias	Sí	--	Sí
Dolor de pantorrillas	--	--	Sí
Estado mental alterado	--	--	Sí
Cianosis	--	Sí	--
Tos seca	--	Sí	--
Tos con producción de esputo	Sí	--	--
Disnea/dificultad para respirar	--	Sí	--
Crepitancias	--	Sí	--
Vómitos	--	--	Sí
Sangrado espontáneo Leve	Sí	--	--
Prueba de lazo positiva	--	--	Sí
Disminución de diuresis	--	--	Sí
Dolor abdominal	--	--	Sí
Síntomas durante la hospitalización			
Fiebre	--	Sí	Sí
Escalofríos	--	--	Sí
Fatiga/debilidad	--	--	Sí
Cefalea	--	--	Sí
Mialgias/artralgias	--	--	Sí
Dolor de pantorrillas	--	--	Sí
Tos seca	--	Sí	--
Tos con producción de esputo	Sí	--	--
Crepitancias	--	Sí	--
Sangrado espontáneo Leve	Sí	--	--
Trombocitopenia (<100,000)	--	--	Sí
Hemorragia	Sí	--	--
Severidad de la hemorragia	Leve	--	--
Radiografía con hallazgos anormales			
Patrón alveolo-intersticial (mixto)	--	Sí	--

E. Hematología

La presencia de hematócrito elevado al ingreso fue mayor entre los casos positivos solo a dengue (10%) comparado con los casos positivos solo a influenza (1%). No se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la presencia de leucopenia al ingreso entre los casos positivos solo a dengue comparado con los casos positivos solo a influenza (OR= 1.7, IC95% 0.7-4.5). Al comparar la probabilidad de trombocitopenia (conteo de plaquetas por debajo de 150,000/mm³) al ingreso entre los casos positivos solo a dengue contra los casos positivos solo a influenza encontramos una OR=4.0 (IC95%, 1.4-11.5), sin embargo el 26% de los casos positivos solo a influenza presentaban trombocitopenia al ingreso. (Tabla 11)

Tabla 11. Hallazgos de resultado de hemograma.

Parámetro del hemograma Momento de medición	Influenza (+) n=43		Dengue (+) n=38		Infección concurrente influenza-dengue n=3	
	Casos	%	Casos	%	Casos	%
	Hematócrito elevado					
Cualquier momento	3	7%	13	34%	0	0%
Al ingreso	1	2%	10	26%	0	0%
Leucopenia						
Cualquier momento	22	51%	18	47%	1	33%
Al ingreso	18	42%	21	55%	1	33%
Trombocitopenia						
Cualquier momento	16	37%	25	66%	1	33%
Al ingreso	11	26%	22	58%	0	0%

Encontramos también que, independiente del momento de la toma del hemograma completo (ya sea al ingreso o durante la hospitalización) el conteo de plaquetas por debajo de 100,000/mm³ (valor de trombocitopenia considerado por algunos clínicos del país como criterio de severidad) se presentó en el 57.9% (22 de 38 casos) de los casos diagnosticados como solo dengue, y en un 16.3% (7 de 43 casos) de los casos diagnosticados como solo influenza. Inclusive, para los casos con diagnóstico de solo influenza, el 14.0% (6 de 43 casos) presentaron plaquetas por debajo de 100,000/mm³ al ingreso.

De los 16 casos menores de 5 años positivos solo a influenza, 19% (3 casos) presentaron trombocitopenia al momento del ingreso hospitalario y 25% (4 casos) en cualquier momento durante la hospitalización. De los 27 casos de 5 años de edad o mayores positivos solo a influenza, el 30% (8 casos) presentaron trombocitopenia al momento del ingreso y 44% (12 casos) en cualquier momento durante la hospitalización. No hubo diferencia estadísticamente significativa en la presencia o no de trombocitopenia al momento del ingreso con base a los

grupos de edad (menores de 5 años y de 5 años o mayores [OR= 1.6, IC95% 0.2-10.7]). No hubo diferencia estadísticamente significativa en la presencia o no de trombocitopenia en cualquier momento de la hospitalización con base a los grupos de edad (menores de 5 años y de 5 años o mayores [OR= 0.4, IC95% 0.1-1.9]).

Tabla 12. Diferencias de la severidad agrupada del cuadro clínico y manejo entre los casos según su clasificación al ingreso y según el diagnóstico de laboratorio

Clasificación y diagnóstico	Severidad con agrupación de criterios				Diferencia entre los grupos	
	Severos ^a (n= 146)		No severos (n= 164)			
	Casos	%	Casos	%	OR	(Li-Ls)
Por Clasificación al ingreso						
IRAG	117	60.1%	74	39.9%	4.9	(2.9-8.2)*
Dengue	29	23.6%	90	76.4%	RG	
Por Diagnóstico de laboratorio						
Influenza (+)	19	44.2%	24	55.8%	1.4	(0.6-3.4)
Dengue (+)	14	36.8%	24	63.2%	RG	
Infección concurrente influenza-dengue	0	0.0%	3	100.0%		

[RG] Grupo de referencia. ^a Se consideraron severos aquellos casos que presentaron algún criterio de severidad, que tenían más de 5 días de estancia intrahospitalaria, que recibieron algún antibiótico restringido o que fallecieron durante la hospitalización por el evento actual. * p<0.05

F. Severidad

Respecto a la severidad de los casos, al realizar el análisis mediante la agrupación de criterios, la proporción de casos con mayor severidad fue significativamente mayor en aquellos casos clasificados como IRAG (60.1%) respecto a aquellos clasificados a su ingreso como SD (39.9%): OR= 4.9 (2.9-8.2). Al comparar los casos con diagnóstico de laboratorio (excluyendo del análisis aquellos con infección concurrente influenza-dengue), no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los casos con diagnóstico de influenza y dengue en cuanto a la severidad de la presentación clínica. (Tabla 12).

IV. DISCUSIÓN

La infección concurrente de los virus de la influenza y el dengue ocurrió en 3 (0.9%, IC95% = 0.2-2.7%) de 321 sujetos hospitalizados por IRAG o SD en El Salvador, en el periodo de julio a septiembre de 2012. Encontramos que esta confluencia de virus ha ocurrido fuera del periodo en el que ocurrió la pandemia por influenza H1N1pnd09. La concurrencia de los dos virus fue observada en los meses del año (abril-septiembre) en los que los dos virus circulan con mayor intensidad en el país (Armero et al. 2010).

Al utilizar como denominador los 84 casos con algún resultado positivos (46 casos de influenza y 41 casos de dengue), encontramos que la proporción se aumenta a 4%. Suttinont y cols., en un estudio realizado en Tailandia en 2002, en el cual se buscaba esclarecer la etiología de los casos con fiebre sin foco aparente en adultos hospitalizados, encontraron 44 casos positivos a dengue, 39 positivos a influenza (ambos por ELISA, con el riesgo de reacciones cruzadas a anticuerpos), y 4 positivos a ambos virus. Esto constituiría un total de 87 casos positivos y 4 con infección concurrente influenza-dengue lo que constituye un 5% (Suttinont et al. 2006). Esto supera en un punto porcentual a lo encontrado en nuestro estudio. En un hospital de Puerto Rico, en 2009, encontraron una infección concurrente influenza-dengue (0.6%) de un total de 170 casos positivos (138 influenza y 32 dengue) identificados mediante la vigilancia mejorada de enfermedades febriles agudas (Lorenzi et al. 2013). No encontramos otros estudios que ofrecieran datos de prevalencia de la infección concurrente influenza-dengue, o denominadores que nos permitieran calcularla.

Una interpretación interesante para el grupo que brinda atención a pacientes podría ser la siguiente: de los 21 casos hospitalizados por diagnósticos equivalentes de IRAG que resultaron positivos a influenza, 1 (5%) presentó infección concurrente con el virus del dengue. Por otro lado, de los 36 casos ingresados por SD y que resultaron positivos a dengue, 2 (6%) presentaron infección concurrente con influenza.

Otro hallazgo de interés es que, aunque los casos de infección concurrente influenza-dengue se encontraron cada uno en diferentes hospitales, los tres fueron en niños menores de 10 años. Por tanto hemos de considerar que, cualquier extrapolación a poblaciones similares, deberá tomar en cuenta este grupo de edad. Los hallazgos de la infección concurrente en población pediátrica ya fueron descritos durante la pandemia por Gordon y Pérez en Nicaragua (Gordon et al. 2010; Perez et al. 2010). Estos hallazgos difieren con otras descripciones en pacientes adultos (Rodriguez et al. 2010; Hussain et al. 2012; Borthakur et al. 2011).

Al extrapolar los resultados de la prevalencia de la infección concurrente influenza-dengue en los pacientes hospitalizados en El Salvador podríamos estimar que, en el periodo del año en el que se realizó el estudio (de las semanas epidemiológicas de la 27 a la 39) en condiciones similares y uniformemente distribuidas en el país como clima, susceptibilidad, prácticas de prevención, dispersión de los virus, patogenicidad y transmisibilidad de los virus, en el 0.9% de todos los hospitalizados por IRAG y SD se detectaría este fenómeno. Esto constituiría un total de 71 (hasta 213 si utilizamos el límite superior del IC95% = 2.7%) sujetos con infección concurrente influenza dengue en hospitalizados para todo el país en un periodo estacional similar. Este dato procede de la mediana quinquenal (semanas epidemiológicas 27-39 de 2008 a 2012 en El Salvador) de los casos hospitalizados por dengue (989 casos) y los casos de IRAG (Códigos de la CIE-10: J10-J18.9= 6,884 casos) (Ministry of Health El Salvador 2012) lo que constituye 7,873 casos hospitalizados por dengue o IRAG.

La infección simultánea de múltiples patógenos en un solo sujeto puede derivar en la competición por los recursos, sin embargo es limitada la literatura sobre el impacto fisiopatológico que ocasionaría la infección concurrente de los virus de la influenza y el dengue. Los virus de la influenza ocasionan una desregulación de las citoquinas proinflamatorias (Damjanovic et al. 2012) lo que está involucrado en la generación del Síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA) (Mok et al. 2007). Como un mecanismo de defensa el cuerpo reacciona con apoptosis ante el virus de la influenza (Srivastava et al. 2009; Koyama et al. 1998). Por otro lado, el tejido respiratorio también es blanco del virus del dengue (Lee et al. 2007). El dengue también puede causar SDRA (Lum et al. 1995; Matthay et al. 2012) y apoptosis celular por lo que se esperaría que el riesgo del daño se potencialice (Borthakur et al. 2011). Pareciera ser que el SDRA ocasionado por la neumonía viral ocasionada por la influenza es directo y mayormente mediado por la tormenta de citosinas. En el caso del dengue el daño al endotelio capilar que ocasiona un aumento en su permeabilidad es ocasionado por la respuesta inflamatoria exagerada (Halstead 2007); pero el SDRA es producto de la sepsis o el choque ocasionado por la hipovolemia producto de esta fuga capilar (Lum et al. 1995).

Algunos investigadores han tratado de explicar porque la infección concurrente influenza-dengue no ha ocasionado la severidad que se esperaría: por un lado la apoptosis ocasionada por el dengue en el epitelio respiratorio eliminaría más rápidamente las células infectadas por influenza lo que limita la infección, y la inmunosupresión causada por el dengue disminuye las señales inflamatorias que contribuyen al SDRA (Borthakur et al. 2011). Se interpreta entonces que, en cualquier caso, para constituir un factor protector contra la severidad de los casos, deberían montarse primero los mecanismos de respuesta contra el dengue antes que los de la influenza. Si

esto es correcto podríamos elucubrar que, si el dengue se da primero, protege contra el SDRA (al inhibir respuesta inmunológica), pero si la influenza se da primero potencia la respuesta inflamatoria por la tormenta de citoquinas, potenciando el daño que ocasiona el dengue. Al momento no hay suficiente información que sustente estas teorías.

Tal y como ha sido descrito en múltiples ocasiones sigue siendo un reto el diagnóstico clínico diferencial entre los casos hospitalizados por influenza y dengue (Borthakur et al. 2011; Rodriguez et al. 2010; Leelarasamee et al. 2004; Hussain et al. 2012; Perez et al. 2010). Esto se refleja en nuestro estudio, en el cual encontramos que, de los casos hospitalizados con diagnóstico de IRAG con muestra procesada, el 10% (20 de 198) fueron positivos a influenza y negativos a dengue; en cambio, de los casos hospitalizados con SD con muestra procesada, el 19% (23 de 123) fueron positivos a influenza y negativos a dengue, de los cuales el 61% (14 casos) presentaban uno o más síntomas respiratorios. De esto se podría interpretar que fueron positivos a influenza uno de cada diez casos hospitalizados por IRAG, y uno de cada cinco hospitalizados por SD. Encontramos que 2 de cada 3 casos (67%) con SD positivos a influenza presentaban algún síntoma respiratorio, algunos de los cuales no están incluidos en la definición de caso de IRAG (ejemplo: rinorrea, coriza, estornudos, estertores crepitantes y sibilancias). Por lo tanto recomendamos una modificación a los algoritmos diagnósticos de la siguiente manera: tomar prueba diagnóstica para influenza a todo sospechoso de dengue, especialmente en aquellos con algún síntoma respiratorio, y/o con un cuadro clínico severo (dada la gravedad de los casos).

La imposibilidad para la identificación clínica de los casos de influenza a partir de los casos hospitalizados de dengue reviste una capital importancia ya que ambas enfermedades tienen abordajes de manejo diferentes: por un lado el dengue se maneja de manera sintomática, primordialmente con aportes precisos de líquidos intravenosos (World Health Organization 2009a; Ministry of Health El Salvador 2010b), en cambio la influenza tiene un manejo específico con antivirales además del soporte respiratorio (Ministry of Health El Salvador 2010a; World Health Organization 2009b; Center for Disease Control and Prevention 2010). Con base en estos hallazgos también se podría poner de manifiesto que la estimación de la carga hospitalaria de la influenza está subestimada debido a la similitud de la presentación clínica con los casos graves de dengue. Esto conduce a la reflexión sobre una definición clínica de caso de IRAG que sea más sensible (Nachtnebel et al. 2012).

Los factores que ocasionan confusión en cuanto al diagnóstico diferencial van más allá de los signos y síntomas. Por ejemplo, la trombocitopenia tradicionalmente se considera un signo más del dengue que de la influenza (Ministry of Health El Salvador 2010b; World Health Organization 2009a); sin embargo encontramos un conteo de plaquetas al ingreso por debajo de

las 150,000/mm³ en el 26% de los casos positivos solo a influenza, similar al 21% encontrado por Lorenzi y cols en Puerto Rico en 2009 (Lorenzi et al. 2013). Esto podría contribuir a la confusión del grupo de atención a pacientes en clasificarlo como dengue, y no proponer una prueba diagnóstica para influenza. Por tanto la trombocitopenia no debería constituir un hallazgo para descartar influenza. Respecto a los hallazgos radiológicos al ingreso: en 6 (23%) de los 20 casos ingresados por IRAG y positivos a influenza se encontró una consolidación pulmonar. Esto puede influir en los sistemas de vigilancia de las neumonías bacterianas, los cuales sustentan su identificación con base en resultados de las radiografías de tórax. En ese contexto, cualquier radiografía de tórax con consolidación es más probable que sea de origen bacteriano, (World Health Organization 2001) sin embargo, la interpretación en ocasiones puede ir más allá y aseverar que, si es bacteriano no es viral, por lo tanto se exige la toma de una prueba para influenza u otro virus respiratorio.

Una de las limitaciones de nuestro estudio fue que la clasificación de los casos como IRAG o SD podría haber estado sesgada por el diagnóstico de admisión realizado por el médico tratante. Esto lo tratamos de manejar mediante coordinadores contratados que verificaban lo más cercano al momento de la admisión los criterios de definición de caso de ambas enfermedades. Otra limitante fue que, debido a las herramientas diagnósticas utilizadas (RT-PCR), solamente logramos inscribir a aquellos casos con menos de 5 días de síntomas, con lo que se pierde la oportunidad de identificar a aquellos que consultan o son referidos tardíamente. Esto se maximiza ya que el estudio se realizó en 3 hospitales de referencia nacional, lo que presupone que son los casos más graves, y que pudieron haber sido previamente atendidos en otros hospitales. Debido a que este estudio se realizó en hospitalizados no se puede generalizar a casos ambulatorios.

No logramos determinar el impacto de la infección concurrente en la severidad de los casos. Esto se debe al pequeño tamaño muestral y a la baja prevalencia de la infección concurrente. Es recomendable extender el estudio para identificar un número de casos que permitan elaborar los análisis estadísticos pertinentes.

Este estudio contribuyó a la implementación de la técnica de RT-PCR para el diagnóstico de dengue en El Salvador. También contribuyó con apoyo externo para sostener la vigilancia centinela de la influenza en los hospitales del estudio. Nuestros hallazgos pueden aportar insumos para hacer mejores estimaciones muestrales para un eventual estudio de corte analítico que permita determinar si la infección concurrente influenza-dengue confiere un mayor nivel de severidad a los casos, y por lo tanto se requieran medidas terapéuticas más agresivas como por ejemplo la justificación del uso de antivirales en cierto tipo de casos, y la toma rutinaria de pruebas diagnósticas para influenza y dengue en todos los casos febriles hospitalizados.

V. CONCLUSIONES

Encontramos que la infección concurrente influenza-dengue ocurrió en el 4% de los casos hospitalizados por SD o equivalencia de IRAG positivos a virus de influenza y/o dengue (no identificamos estudios planteados de manera similar para realizar comparaciones más directas). La infección concurrente se presentó en menores de 10 años, por virus de influenza B, durante la estación de influenza, y fuera del periodo de tiempo en el que se dio la pandemia de influenza H1N1pnd09.

Se encontró también que la definición de casos de dengue fue más sensible para captar los casos graves de influenza que la definición de caso de IRAG. Además se encontró que dos tercios de los casos clasificados como SD que resultaron positivos a influenza presentaban signos respiratorios leves como rinorrea, estornudos, coriza y congestión nasal. Estos criterios clínicos no forman parte de la definición de caso de IRAG.

Encontramos que uno de cada cuatro casos positivos a influenza presentaba trombocitopenia al ingreso. Este hallazgo es relevante ya que podría confundir a los médicos tratantes, quienes erróneamente podrían catalogar este caso como dengue desde su ingreso y perder los beneficios de una prueba para influenza y el manejo específico con antivirales.

La consolidación en la radiografía de tórax de uno de cada 5 casos positivos a influenza hace pensar en el extenso daño tisular que puede ocasionar el virus en el parénquima pulmonar, o sobre la superinfección bacteriana. Por tanto la consolidación neumónica por sí sola no debería ser una exclusión de la etiología viral de los casos.

Debido al pequeño tamaño de la muestra no nos fue posible identificar una relación entre la severidad y la infección concurrente influenza-dengue.

VI. RECOMENDACIONES

Recomendamos una modificación a los algoritmos diagnósticos de los casos sospechosos de dengue: durante la temporada de influenza tomar prueba diagnóstica para influenza a todo sospechoso de dengue, especialmente en aquellos con al menos un síntoma respiratorio, y/o con un cuadro clínico severo.

Recomendamos que el personal médico responsable del manejo de casos considere la administración empírica de antivirales inhibidores de la neuraminidasa a los casos con sospecha de dengue hospitalizados con algún signo respiratorio o en aquellos casos con una presentación clínica muy grave, especialmente durante la temporada de influenza. Siempre acatar la recomendación de la OMS de que no es necesaria una prueba de confirmación diagnóstica para la administración de los antivirales.

Dado que los estudios de carga de enfermedad toman en cuenta los egresos hospitalarios con los códigos de la Clasificación Internacional de las Enfermedad en su capítulo de la J00 a J99, recomendamos que se tome en cuenta la mala clasificación de los casos de dengue. Esto podía incrementar el número de casos de influenza.

Reflexionar sobre una definición clínica de caso de IRAG que sea más sensible ya que la proporción de casos de influenza fue mayor entre los sospechosos de dengue que entre los casos de IRAG.

La trombocitopenia y la consolidación pulmonar no deberían ser motivo de exclusión del diagnóstico de la influenza en los pacientes hospitalizados con algún signo respiratorio, o con sospecha de dengue.

Proponer la realización de un estudio para estimar la severidad de la infección concurrente influenza-dengue basados en un tamaño muestral que tome en cuenta la prevalencia encontrada en este estudio.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Armero, J. et al., 2010. Seasonality of Influenza A in El Salvador. A study of time series 2003-2009. In International Conference for Emerging Infectious Diseases.
- Behrman, R., Kliegman, R. & Jenson, H., 2000. Nelson Textbook of Pediatrics 16a ed. Mc Graw-Hill, ed., Philadelphia.
- Bergmann, M. et al., 2000. Influenza Virus NS1 Protein Counteracts PKR-Mediated Inhibition of Replication. *J Virol. Virol*, 74(13), pp.6203-6.
- Borthakur, B. et al., 2011. Viral co-infection with dengue and H1N1 virus in a critical care setting. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology*, 27(2), pp.236-8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3127306&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed January 11, 2013].
- Braga, E. et al., 2001. Detection of circulant tumor necrosis factor-alpha, soluble tumor necrosis factor p75 and interferon-gamma in Brazilian patients with dengue fever and dengue hemorrhagic fever. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96(2), pp.229-32.
- Center for Disease Control and Prevention, 2012. Laboratory Guidance and Diagnostic Testing for Dengue. Dengue Homepage. Available at: <http://www.cdc.gov/dengue/clinicallab/laboratory.html> [Accessed February 19, 2013].
- Center for Disease Control and Prevention, 2010. Updated Interim Recommendations for the Use of Antiviral Medications in the Treatment and Prevention of Influenza for the 2009-2010 Season. H1N1 Flu CDC. Available at: <http://www.cdc.gov/H1N1flu/recommendations.htm>.
- CIA, 2013. El Salvador. The World Factbook. Available at: <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/geos/es.html> [Accessed July 10, 2013].
- Colón-González, F.J., Lake, I.R. & Bentham, G., 2011. Climate variability and dengue fever in warm and humid Mexico. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 84(5), pp.757-63. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3083744&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 8, 2013].
- Courageot, M., Catteau, A. & Desprès, P., 2003. Mechanisms of dengue virus-induced cell death. *Adv Virus Res*, 60, pp.157-86.
- Damjanovic, D. et al., 2012. Immunopathology in influenza virus infection: uncoupling the friend from foe. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 144(1), pp.57-69. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22673491> [Accessed June 6, 2013].
- Dominguez-Cherit, G. et al., 2009. Critically Ill patients with 2009 influenza A (H1N1) in Mexico. *JAMA*, 302, pp.1880-7.

- Gordon, A. et al., 2010. Clinical attack rate and presentation of pandemic H1N1 influenza versus seasonal influenza A and B in a pediatric cohort in Nicaragua. *Clin Infect Dis*, 50(11), pp.1462–7.
- Hale, B. et al., 2008. The multifunctional NS1 protein of influenza A viruses. *J Gen Virol*, 89(Pt 10), pp.2359–76.
- Halstead, S.B., 2007. Dengue. *Lancet*, 370(9599), pp.1644–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17993365> [Accessed March 3, 2013].
- Holmes, E.C., 2009. RNA virus genomics: a world of possibilities. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(9), pp.2488–2495. Available at: <http://www.jci.org/articles/view/38050>.
- Hussain, R., Al-Omar, I. & Memish, Z.A., 2012. The diagnostic challenge of pandemic H1N1 2009 virus in a dengue-endemic region: a case report of combined infection in Jeddah, Kingdom of Saudi Arabia. *Journal of infection and public health*, 5(2), pp.199–202. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22541269> [Accessed April 3, 2013].
- Jan, J. et al., 2000. Potential dengue virus-triggered apoptotic pathway in human neuroblastoma cells: Arachidonic acid, superoxide anion, and NF- κ B are sequentially involved. *J Virology*, 74, pp.8680–91.
- Jones, M. et al., 2005. Dengue virus inhibits alpha interferon signaling by reducing ATAT2 expression. *J Virol*, 79(9), pp.5414–20.
- Koyama, H. et al., 1998. Role of virus-induced apoptosis in a host defense mechanism against virus infection. *J Med Invest*, 45, pp.37–45.
- Lee, Y. et al., 2007. Dengue viruses can infect human primary lung epithelia as well as lung carcinoma cells, and can also induce the secretion of IL-6 and RANTES. *Virus Research*, 126, pp.216–25.
- Leelarasamee, A. et al., 2004. Etiologies of acute undifferentiated febrile illness in Thailand. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet*, 87(5), pp.464–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15222513>.
- Lorenzi, O.D. et al., 2013. Acute febrile illness surveillance in a tertiary hospital emergency department: comparison of influenza and dengue virus infections. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 88(3), pp.472–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23382160> [Accessed July 12, 2013].
- Louie, J. et al., 2009. Factors associated with death or hospitalization due to pandemic 2009 influenza A(H1N1) infection in California. *JAMA*, 302, pp.1896–902.
- Lum, L. et al., 1995. Dengue-associated adult respiratory distress syndrome. *Ann Trop Paediatr*, 15(4), pp.335–9.
- Martinez, L., 2009. Pacientes con Dengue y H1N1. *La Prensa Grafica*. Available at: <http://www.laprensagrafica.com/lo-del-dia-edi/68270-pacientes-con-dengue-y>.

- Matthay, M.A., Ware, L.B. & Zimmerman, G.A., 2012. The acute respiratory distress syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 122(8), pp.2731–40. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3408735&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 10, 2013].
- Ministerio de Salud de El Salvador, 2013. Estadísticas de los hospitales. Comunicación personal.
- Ministry of Health El Salvador, 2012. Morbidity and Mortality Information System (SIMMOW).
- Ministry of Health El Salvador, 2009. Official list of drugs 10th ed., San Salvador, El Salvador.
- Ministry of Health El Salvador, 2010a. Updated guidelines for the management of pandemic (H1N1) 2009 in humans. Institutional Documentation. Available at: http://www.salud.gob.sv/servicios/descargas/documentos/download/440/chk,f719c3f3370f3916d5436512a3bc9fb4/no_html,1/.
- Ministry of Health El Salvador, 2010b. Updated guidelines for treatment of dengue cases Health Surveillance Direction, ed., San Salvador.
- Mok, C. et al., 2007. Differential onset of apoptosis in influenza A virus H5N1- and H1N1-infected human blood macrophages. *J Gen Virol*, 88, pp.1275–80.
- Nachtnebel, M. et al., 2012. Lessons from a one-year hospital-based surveillance of acute respiratory infections in Berlin- comparing case definitions to monitor influenza. *BMC public health*, 12(1), p.245. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3362781&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 12, 2013].
- PAHO, 2011. Operative guidelines for national intensified surveillance of severe acute respiratory syndrome (SARI) Infectious Diseases Prevention and Control Project, ed., Washington DC.
- PAHO, 2009a. Pandemic (H1N1) 2009. Regional Update, p.Nov 12, 2009. Available at: http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2009/RU_Pandemic_H1N1_2009_November3_2009.pdf.
- PAHO, 2009b. Pandemic (H1N1) 2009. Regional Update, p.Oct 26, 2009. Available at: http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2009/RU_Pandemic_H1N1_2009_October26_2009.pdf.
- Pan-American Health Organization-CDC, 2006. Generic Protocol for Influenza Surveillance. PAHO Health Surveillance and Disease Attention Area.
- Perez, M.A. et al., 2010. Severe coinfections of dengue and pandemic influenza A H1N1 viruses. *The Pediatric infectious disease journal*, 29(11), pp.1052–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20811315> [Accessed July 10, 2013].
- Rodriguez, L. et al., 2010. Co-infection with dengue virus and pandemic (H1N1) virus [letter]. *Emerg Infect Dis*, 16(5). Available at: <http://www.cdc.gov/EID/content/16/5/882.htm>.

- Schmaier, A., 2008. Laboratory evaluation of hemostatic and thrombotic disorders. In R. Hoffman, E. Benz, & S. Shattil, eds. *Hoffman Hematology: Basic Principles and Practice*. Philadelphia: Elsevier Inc.
- Srivastava, V. et al., 2009. Influenza a virus induced apoptosis: Inhibition of DNA laddering and caspase-3 activity by zinc supplementation in cultured HeLa cells. *Indian J Med Res*, 129, pp.579–86.
- Stambouljian, D. et al., 2000. Influenza. *Infect Dis Clin North Am*, 14(1), pp.141–66.
- Suttinont, C. et al., 2006. Causes of acute, undifferentiated, febrile illness in rural Thailand: results of a prospective observational study. *Annals of tropical medicine and parasitology*, 100(4), pp.363–70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16762116> [Accessed November 29, 2012].
- Tre, T., 2009. Influenza Pandemic (H1N1) 2009. *Thanh Nien Daily News*, p.Nov 12. Available at: <http://www.thanhniennews.com/healthy/?catid=8&newsid=53607>.
- Viboud, C., Alonso, W. & Simonsen, L., 2006. Influenza in Tropical Regions. *PLoS Med*, 3(4), p.e89.
- World Health Organization, 2009a. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR), pp.1–160.
- World Health Organization, 2005. *International Health Regulations 2nd ed.*, Geneva. Available at: http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241580410_eng.pdf.
- World Health Organization, 2009b. Pandemic Influenza A (H1N1) 2009 virus vaccine - conclusions and recommendations from the October 2009 meeting if immunization Strategic Advisory Group of Experts. *Weekly epidemiological record*, 84(49), pp.505–516.
- World Health Organization, 2010. Public Health research agenda for influenza. Regional Office for South-East Asia., Report of (SEA-CD-224), pp.18–20 August. Available at: http://203.90.70.117/PDS_DOCS/B4685.pdf.
- World Health Organization, 2001. Standardization of interpretation of chest radiographs for the diagnosis of pneumonia in children. Department of Vaccines and Biologicals, Pneumonia . Available at: http://www.who.int/vaccine_research/documents/en/pneumonia_children.pdf.