

11262



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado  
Instituto Nacional de Enfermedades  
Respiratorias.

## FALLA DE ORIGEN

**UTILIDAD DE LA PRUEBAS DE PROVOCACION  
ANTIGENICA PARA EL DIAGNOSTICO DE ALVEO-  
LITIS ALERGICA EXTRINSECA INDUCIDA POR LA  
EXPOSICION AL ANTIGENO AVIARIO.**

**TESIS DE POSGRADO**

*Que para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias Médicas*

**P R E S E N T A**

*Dra. Alejandra Ramírez Venegas*

Aseor Dr. Raúl H. Sansores Martínez



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

***"Al Señor Jesucristo, único de recibir la gloria y la honra y el poder"***

***"Si clamares a la inteligencia,  
Y a la prudencia dieres tu voz;  
Si como a la plata la buscares,  
Y la escudriñares como a tesoros,  
Entonces entenderás el temor de Jehová,  
Y hallarás el conocimiento de Dios.  
Porque Jehová da la sabiduría,  
Y de su boca viene el conocimiento y la inteligencia".***

***Proverbios 2:3-6.***

**Al Dr. Raúl Sansores que con su apoyo incondicional como maestro y amigo, pude culminar este proyecto.**

**Al Dr. Pérez-Padilla de quien recibí su apoyo como co-tutor en este proyecto.**

**A la Dra. Chapela, Dr. Salas, Dr. Carrillo y Dr. Selmán por brindarme todas las facilidades para que llevará a cabo mi Maestría.**

**A mis colegas Justino, Juan Carlos y Roberto con quienes compartí “los datos blandos y duros” de la Maestría.**

**A mis pacientes sin los cuales no se hubiera llevado a cabo este estudio.**

**Con mucho amor a mis papás, tía Tota y Estelín, Bertha, Vicky, Pila,  
Claudia, y Gilberto**

## INDICE

	Pag
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	10
HIPOTESIS	10
PACIENTES Y METODOS	11
ANALISIS ESTADISTICO	20
ASPECTOS ETICOS	20
RESULTADOS	25
DISCUSION	33
TABLAS, FIGURAS Y GRAFICAS	44
REFERENCIAS	59

## **INTRODUCCION**

### **ALVEOLITIS ALERGICA EXTRINSECA.**

#### **GENERALIDADES.**

La alveolitis alérgica extrínseca (AAE) es una enfermedad del parenquima pulmonar secundaria a la inhalación de antígenos orgánicos que se caracteriza por inflamación de predominio mononuclear, con linfocitos y células del sistema fagocítico que tienden a formar nódulos o granulomas (1).

El pulmón del Granjero, fue descrita por Campbell en 1932 (2) y es la forma clásica de la alveolitis alérgica extrínseca secundaria a la inhalación de bacterias termofílicas (*mycopolispora faeni*). Desde este reporte inicial se han descrito más de 50 diversos antígenos ambientales y ocupacionales asociados a diferentes tipos de AAE. Sin embargo, a pesar de que el reconocimiento y diagnóstico de la enfermedad se ha ido incrementando, los factores epidemiológicos, la historia natural, la patogénesis así como el tratamiento y pronóstico de esta entidad permanecen pobremente entendidos.

#### **EPIDEMIOLOGIA**

Se han realizado pocos estudios epidemiológicos sobre AAE pero se ha sugerido que su prevalencia es baja. Por ejemplo, un estudio en 1400 granjeros de Wisconsin mostró una prevalencia para el pulmón del granjero de 42 en 100,000 habitantes (3). Sin embargo, estudios más recientes de brotes de AAE en industrias y oficinas contaminadas por diversos organismos han informado una amplia cantidad de episodios de AAE. En algunos reportes, más del 70% de la población expuesta



estuvo afectada (4). En este contexto se puede señalar que la prevalencia de la enfermedad y ataques recurrentes varía significativamente dependiendo no solo de la definición del caso elegido sino de las variables de exposición y de los factores de riesgo del huésped, que están por cierto, pobremente caracterizados. En México la prevalencia de la AAE se desconoce. Sin embargo, datos en nuestro Instituto sugieren que es la enfermedad intersticial más frecuente (5). En nuestro medio afecta preferentemente a adultos jóvenes con una relación de mujeres/hombres de 8:1 (5).

## **DIAGNOSTICO**

No existe ningún estudio que por si sólo permita el diagnóstico de AAE. En términos generales, el diagnóstico de AAE se basa en la suma de una serie de hallazgos clínicos, epidemiológicos, radiológicos, serológicos, funcionales e histológicos que apoyan el diagnóstico (5). Clásicamente, la presentación clínica de la AAE ha sido dividida en aguda, subaguda y crónica. La forma aguda es a menudo atribuida a la exposición masiva de antígenos orgánicos, con síntomas respiratorios y sistémicos muy significativos. Se presenta 4 a 8 horas después de la exposición, de la cual el paciente suele recuperarse al alejarse del antígeno, aún sin ningún tipo de tratamiento. La forma subaguda es secundaria a una exposición más prolongada y continua del antígeno, pero al parecer la exposición es de poca intensidad. En esta fase prevalece la disnea de grandes esfuerzos que puede pasar desapercibida por los pacientes. Si la exposición persiste se llega a la fase crónica con síntomas progresivos (disnea de pequeños esfuerzos), cambios fisiológicos irreversibles provocados por fibrosis intersticial y un gran porcentaje de estos pacientes presenta importante hipocratismo digital (5,6).

## **ALVEOLITIS ALERGICA EXTRINSECA SECUNDARIA A ANTIGENO AVIARIO**

En México, al menos en la experiencia de nuestro hospital, la AAE asociada a la inhalación de proteínas derivadas de las aves es la forma más común de enfermedad intersticial (7). Esto se debe a que la convivencia con aves es una costumbre relativamente común. En una encuesta realizada a pacientes que acuden al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), se encontró que esta costumbre era hasta del 40% en las personas entrevistadas (8). Particularmente interesante fue encontrar que el tipo de aves con que las personas encuestadas conviven, son palomas, lo que provoca una exposición doméstica, crónica y de baja intensidad (7). En ocasiones, la convivencia suele ser muy estrecha al grado de tener a los animales en la misma habitación donde los pacientes duermen. La cantidad de aves con la que los pacientes conviven varía de una familia a otra, pudiendo ser desde una paloma hasta más de 50. Cuando tienen tal cantidad de palomas generalmente es porque llegan a los techos de sus casas o al patio. En estos casos las personas se ponen en contacto con el antígeno aviario al barrer las excretas de las aves (esto es lo que se conoce como baja intensidad, es decir, el paciente solo está expuesto al antígeno durante cortos y determinados momentos del día a una cantidad relativamente baja y generalmente por muchos años). Otras aves que comparten la importancia de los pichones en cuanto a la convivencia familiar son los pericos, canarios y en general los pájaros de ornato. En cuanto al diagnóstico de esta entidad se hace de forma similar que las otras formas de AAE lo único que varía es el dato epidemiológico

del antígeno agresor, es decir la relación causa-efecto de la enfermedad al exponerse a las aves.

En relación al pronóstico de la AAE en la literatura americana esta enfermedad es considerada como un padecimiento de evolución benigna (9), sin embargo no es lo que se ha observado en México (7).

En un trabajo de nuestro grupo (10), se estudiaron 144 pacientes con enfermedad intersticial difusa con grados variables de fibrosis pulmonar. De estos, 94 llenaban los criterios diagnósticos de AAE inducida por antígeno aviario. El 31% de los pacientes llenaba los criterios de fibrosis pulmonar idiopática (FPI). Esta última entidad, también conocida como alveolitis fibrosante criptogénica es una enfermedad de origen desconocido cuya característica histológica principal es la inflamación crónica y sostenida de las paredes alveolares a expensas de células mononucleares y polimorfonucleares con un depósito progresivo de fibras de colágena, y la consecuente distorsión irreversible de la arquitectura pulmonar. Tanto en los reportes de la literatura mundial como en México esta enfermedad es considerada de mal pronóstico con una corta esperanza de vida (11). Cuando la esperanza de supervivencia de los pacientes con AAE se comparó con la de los pacientes con FPI, se encontró que no había diferencias significativas entre ambas, siempre y cuando el grado de fibrosis pulmonar fuera similar. En un análisis ulterior del mismo trabajo (7), además del diagnóstico de AAE y FPI se encontró un "tercer grupo" (30 de 125 pacientes) en el que no se pudo establecer un diagnóstico de certeza. Estos pacientes se catalogaron como "neumopatía intersticial usual con exposición a aves" debido a que histologicamente el diagnóstico era compatible con FPI; sin embargo los demás criterios diagnósticos podían corresponder a AAE. Es posible que muchos de estos casos en realidad correspondan a a) casos de AAE y b) pacientes

con FPI con exposición a las aves. En ambos casos, los pacientes llegan al hospital en fase de fibrosis avanzada y por lo tanto son morfológicamente indistinguibles de otras causas de fibrosis pulmonar. Este es uno de los principales problemas diagnósticos de las enfermedades intersticiales, es decir, que en los estadios avanzados, son histológicamente similares en prácticamente todas las enfermedades. Otro inconveniente que existe para la correcta y fácil identificación de la AAE en nuestro medio, es la costumbre extendida de convivir con aves, lo cual propicia que el antecedente epidemiológico de convivencia sea común tanto para pacientes con AAE como para los pacientes con fibrosis pulmonar secundaria a otras causas.

### **PRUEBAS DE RETO**

Las pruebas de provocación bronquial con sustancias antigénicas y farmacológicas fueron introducidas en Norte América para la detección de hiperreactividad de las vías aéreas (11-13). Desde entonces estos procedimientos han sido evaluados extensamente y su utilidad diagnóstica se ha extendido no solo a enfermedades de la vía aérea sino también a padecimientos parenquimatosos. Las pruebas de provocación bronquial dan un significado práctico del diagnóstico etiológico y al mismo tiempo reproducen algunas o todas las manifestaciones clínicas. A éste respecto, estas pruebas sirven como modelos clínicos de la enfermedad en cuestión (14).

Su mayor aplicación y utilidad han sido en pacientes con sospecha de hiperreactividad o con asma atípica. (14-15). Cuando los pacientes con hiperreactividad son expuestos a un agente farmacológico o antigénico que ocasiona broncoconstricción, éstos desarrollarán usualmente una de tres tipos de respuesta

**Respuesta inmediata:** Consiste en broncoespasmo de presentación aguda que se desarrolla algunos minutos después de la administración de la sustancia inhalada, manifestándose con cambios en la función pulmonar (disminución del volumen espiratorio forzado en el primer segundo, VEF1) y que revierten con un broncodilatador. **Respuesta tardía:** Se desarrolla 1 a 6 horas después de la exposición al material antigénico inhalado y es el resultado de una reacción inflamatoria y acúmulos de moco intraluminal. Esta reacción va progresando lentamente hasta alcanzar su máximo entre las 6 y 8 horas. Esta reacción está caracterizada por fiebre, leucocitosis, manifestaciones de una reacción sistémica. Esta asociada con anticuerpos precipitantes y puede ser debido a una reacción alérgica tipo III. **Respuesta dual:** Representa una combinación de respuesta inmediata y tardía (16).

Las pruebas de reto para el diagnóstico de pacientes con AAE, en las que se nebuliza extractos estériles de suero o excremento de aves a los pacientes, se han utilizado desde hace cuando menos dos décadas (17-19) De hecho una de las primeras descripciones de la enfermedad asociada a la exposición a aves, se hizo utilizando pruebas de provocación (20). Una respuesta es considerada positiva si reproduce las manifestaciones clínicas de la alveolitis. Es decir, el sujeto presenta disnea progresiva que empeora con los esfuerzos, fiebre de grado variable, y estertores subcrepitantes, entre las 4 a 8 hrs después de ser expuesto al antígeno Sus pruebas funcionales respiratorias muestran disminución en la capacidad vital forzada (CVF), en la difusión del monóxido de carbono (DLco), y en la PaO<sub>2</sub>. Radiológicamente puede haber presencia o aumento de los infiltrados pulmonares (19-21). Sin embargo debido a las diversas manifestaciones de la enfermedad no han existido hasta la actualidad criterios precisos para definir una respuesta positiva "alveolar" (19). Algunos estudios han utilizado únicamente a la fiebre como prueba positiva

(19), sin embargo en otros estudios los sujetos controles también la desarrollaron (21). Mediciones más objetivas como las pruebas de función pulmonar tampoco han sido consistentes. Aún cuando lo habitual es la presencia de disminución en la CVF, y DLco, estas variables pueden permanecer sin cambios. Lo anterior ha hecho que la **utilidad de la prueba sea variable** (19). Hendrick y cols. (18) encontraron una sensibilidad y especificidad de 78 y 95% respectivamente. Sin embargo, estos autores incluyeron a pacientes cuyo diagnóstico se estableció fundamentalmente en base a criterios serológicos y clínicos. El defecto metodológico de estos autores es que en un porcentaje importante de sus pacientes, el diagnóstico no era concluyente y prácticamente utilizaron la prueba de reto como parte del diagnóstico de la enfermedad que estaban investigando. Hargreave y cols (19) describieron las características de la prueba comparando a los que respondieron contra los que no respondieron. De ninguno de los trabajos publicados es posible obtener información sobre la utilidad clínica de la prueba. Un problema fundamental con la mayoría de los trabajos que utilizan el reto antigénico para el diagnóstico de la AAE es que sólo se consideran los criterios clínicos, serológicos y funcionales para incluir a un paciente como portador de alveolitis alérgica extrínseca. En ningún reporte se ha utilizado la biopsia pulmonar como criterio diagnóstico. A diferencia de la mayoría de los autores, nosotros casi siempre, a menos que existan contraindicaciones absolutas, recurrimos a la biopsia pulmonar para el diagnóstico de las enfermedades pulmonares intersticiales difusas, incluyendo a la AAE.

## **JUSTIFICACION.**

1. **Pronóstico.** En la actualidad en otras partes del mundo el reto antigénico no se utiliza en forma rutinaria para el diagnóstico de AAE, a menos que existan dudas sobre el origen del antígeno agresor (22). Las razones de ello es que la

enfermedad no constituye un problema real de salud pública, pues aparentemente su prevalencia es baja y su curso es benigno (9) y con los criterios de diagnóstico convencionales, los pacientes con AAE son bien identificados. Sin embargo, la AAE en nuestro medio es una enfermedad que puede llevar a una fibrosis pulmonar severa, capaz de condicionar incapacidad física y muerte a mediano plazo. La experiencia de nuestro grupo de trabajo, muestra que existe un número importante de pacientes a quienes no se les establece el diagnóstico de certeza, a pesar de contar con evidencias serológicas, funcionales e histológicas (7). Desde este punto de vista, contar con una prueba cuya utilidad sea documentada apropiadamente, ayudaría a disminuir el número de casos sin diagnóstico y por lo tanto el pronóstico mejoraría..

- 2. Evitar métodos diagnósticos invasivos.** En la actualidad la biopsia pulmonar a cielo abierto (toracotomía) es el método al que se recurre para la obtención del espécimen histológico y la corroboración diagnóstica. La prueba de reto podría brindar utilidad suficiente que evitara este recurso. Esto sería particularmente importante en aquellos pacientes en quienes sus condiciones físicas o su riesgo quirúrgico no les permita que la biopsia se les realice. En nuestro servicio se atendieron en un año a 60 pacientes con diferentes tipos de enfermedades intersticiales. Sólo 38 de ellos fueron sometidos a biopsia pulmonar. Los restantes pacientes no pudieron someterse a este procedimiento por diferentes razones, entre otras, debido al riesgo quirúrgico elevado. La consecuencia de esto es que un número importante de pacientes quedó sin diagnóstico de certeza. La prueba de reto podría ser útil para definir el diagnóstico en un grupo de estos pacientes.
- 3. Modelo de inflamación intersticial aguda.** Una de las principales causas de re-ingreso y hospitalización de los pacientes con AAE es la reactivación de la enfermedad (sospecha de re-exposición) versus infección bronquial. En términos generales es difícil este diagnóstico diferencial. La prueba de reto puede permitir

conocer los cambios inmunológicos y no inmunológicos asociados al fenómeno inflamatorio (proteína C reactiva, factor reumatoide, Inmunoglobulinas, niveles séricos de anticuerpos contra el antígeno aviario, leucocitosis, linfocitosis, incremento de plaquetas, entre otros). El análisis ordenado de estos cambios pueden dar nuevos horizontes al diagnóstico diferencial de las causas de reactivación de la enfermedad.

4. **Modelo de investigación.** Si la prueba fuera suficientemente útil y además con riesgos mínimos para los pacientes (como al parecer se reporta en la literatura), podría ser utilizada como un modelo para estudiar los eventos inflamatorios, inmunológicos y pro-fibrosantes que acompañan a esta enfermedad.

## **OBJETIVOS**

1. Describir la sensibilidad, especificidad, y los valores predictivos positivo y negativo de la prueba de reto con antígeno aviario, para el diagnóstico de la AAE
2. Describir los cambios clínicos, funcionales, serológicos y radiológicos asociados a la AAE por antígeno aviario.
3. Reconocer el o los indicadores mas sensibles y específicos de una exposición aguda al antígeno aviario.

## **HIPOTESIS**

La nebulización de dosis bajas (dilución 1/100) de antígeno aviario (suero) en pacientes con AAE, aún en fases avanzadas o con un patrón histológico de FPI, provoca una reacción aguda que semeja la forma aguda de la enfermedad. A las



mismas dosis, la nebulización de antígeno aviario en pacientes con otras enfermedades intersticiales diferentes a la AAE, y en sujetos sanos que cursen con antígeno aviario positivo, no provoca tal reacción.

## **DISEÑO DEL ESTUDIO**

El trabajo se realizó siguiendo los lineamientos recomendados para la elaboración de una prueba diagnóstica (23).

## **PACIENTES Y METODOS**

La población de estudio incluyó tres grupos de sujetos: 1) Pacientes con AAE, 2) Sujetos con enfermedades fibrosantes del pulmón diferentes a la AAE (FPDE) y 3) Sujetos asintomáticos con antígeno aviario positivo (SA). Los sujetos enfermos fueron pacientes de ambos sexos, de edades entre 18 y 70 años que se internaron por primera vez en el INER para estudio de neumopatía intersticial difusa, en el periodo comprendido entre junio de 1993 a diciembre de 1994.

I. **Sujetos con AAE:** Se incluyeron 17 pacientes con diagnóstico de AAE. El cálculo del tamaño de la muestra original era de 34 y se hizo tomando en cuenta los datos de un estudio piloto realizado en 5 enfermos a quienes se les sometió a la prueba de reto y en quienes se midieron algunas variables clínicas, funcionales y serológicas. Sin embargo se hizo una prueba de potencia para la CVF con las diferencias obtenidas de 361 ml, y para estas diferencias se obtuvo un poder del más de 100% por lo que se consideró que el número de pacientes estudiado hasta

la actualidad era suficiente, para realizar un análisis final. El diagnóstico de AAE se estableció en base a los criterios internacionalmente aceptados (5) a saber:

1. Antecedentes de exposición a aves con relación causa-efecto.
2. Disnea de esfuerzo o de reposo que mejora cuando el paciente se aleja del supuesto antígeno agresor.
3. Estertores crepitantes y/o subcrepitantes en las bases pulmonares.
4. Radiografía de tórax con imágenes bilaterales y difusas que incluya imágenes de tipo nodular, reticulo-nodular o en panal de abeja.
5. Pruebas de función pulmonar con patrón restrictivo puro o predominante.
6. Normoxemia en reposo con hipoxemia en ejercicio o hipoxemia en reposo que empeora con el ejercicio.
7. Anticuerpos séricos contra antígeno aviario determinados por ELISA.(AcAv)\*
8. Biopsia pulmonar cuyo reporte histológico fuera compatible con neumonitis por hipersensibilidad

\*La prueba de anticuerpos circulantes contra al antígeno aviario se consideró positiva a un punto de corte igual o mayor de 0.22 densidades ópticas. Para establecer este punto de corte, se tomaron del banco de sangre de nuestro Instituto a 100 donadores consecutivos a quienes se les descartó razonablemente alguna enfermedad. Se les hizo un interrogatorio con respecto a la convivencia con aves. A todos se les midió la presencia de anticuerpos contra antígeno aviario por el método de ELISA. Debido a la distribución de los resultados el límite de la normalidad se consideró por debajo de la percentila 97.5 y el punto de corte que se consideró negativo fue igual o menor a 0.21 densidades ópticas (24).

#### **CRITERIOS DE INCLUSION AAE.**

- Pacientes con los criterios mencionados para el diagnóstico de AAE.
- Pacientes estables, sin datos de insuficiencia respiratoria aguda.

### **CRITERIOS DE EXCLUSION AAE**

- Haber recibido esteroides en los últimos 6 meses.
- Insuficiencia cardiaca no controlada.
- Infección bronquial o del parenquima pulmonar.
- CVF menor de 1000 ml.
- PaO<sub>2</sub> menor de 40 mm Hg.

### **CRITERIOS DE ELIMINACION AAE**

- No haberse sometido a biopsia pulmonar.

**II. Grupo FPDE** Para poder establecer la utilidad de la prueba de reto se requirió aplicarla también a otros pacientes en quienes con certeza se estableció que no tuvieran AAE. Para este fin se incluyeron 2 grupos diferentes de pacientes. a) Once sujetos con FPI; b) Seis pacientes con fibrosis pulmonar asociada a enfermedad colágeno vascular u otras neumopatías intersticiales de etiología desconocida. Los dos grupos presentan alteraciones clínicas, radiológicas y funcionales características de una neumopatía intersticial, y en este sentido similar a la AAE, pero con mecanismos patogénicos diferentes.

### **CRITERIOS DE INCLUSION FIBROSIS PULMONAR IDIOPATICA:**

Con los siguientes criterios diagnósticos:

1. Disnea de esfuerzo o de reposo .
2. Estertores crepitantes y/o subcrepitantes en las bases pulmonares.
3. Radiografía de tórax con patrón intersticial con imágenes de tipo nodular, reticulo-nodular o en panal de abeja.
4. Pruebas de función pulmonar con patrón restrictivo o predominante.

5. Hipoxemia o normoxemia de reposo que empeora con el ejercicio.
6. Sin antecedentes de exposición laboral o doméstica a agentes que se conocen que pueden producir fibrosis pulmonar.
7. Ausencia de anticuerpos circulantes contra antígeno aviario.
8. Haber descartado razonablemente otras causas de fibrosis pulmonar como enfermedades colágeno-vasculares y otras.
9. Biopsia pulmonar compatible con FPI, sin evidencia de granulomas, vasculitis o enfermedades infecciosas.

#### **CRITERIOS DE INCLUSION DE FIBROSIS PULMONAR ASOCIADA A ENFERMEDADES COLAGENO VASCULARES.**

1. Haberse ajustado a los criterios diagnósticos para la enfermedad colágeno vascular en cuestión, de acuerdo a los lineamientos de la asociación americana de reumatología (AAR). (25-27).
2. Haber llenado los 5 primeros criterios mencionados para FPI.
3. Tener una biopsia con el diagnóstico morfológico de precisión.

**\*Para las otras FPDE, se consideraron criterios de inclusión los puntos 2 y 3.**

Debido a la alta prevalencia de convivencia con palomas, se decidió que el contacto positivo, pero en ausencia de anticuerpos específicos por ELISA sumado a la reunión de los 3 requisitos previamente mencionados podía aceptarse como criterio de inclusión.

#### **CRITERIOS DE EXCLUSION Y ELIMINACION.**

- Como los del grupo I.

III. **Grupo SA.** Cinco sujetos asintomáticos quienes estuvieron igualmente expuestos al antígeno aviario, pero que sin embargo no cursaron con la

enfermedad. Este grupo de sujetos estuvo formado por los familiares de los pacientes, con un grado similar de exposición a las aves que los pacientes.. A todos ellos se les realizó pruebas de función pulmonar (ver abajo) antes y después del reto antigénico. Las previas a la prueba de reto se utilizaron con dos objetivos, inicialmente para establecer que los sujetos no tuvieran alteraciones en la función pulmonar. y posteriormente para evaluar posibles cambios secundarios a la prueba de reto.

### **EJECUCION DEL ESTUDIO.**

El reto se realizó a ciegas, esto es, sin saber si el paciente cursaba con AAE o con otra entidad diferente. Al paciente se le vigiló las siguientes 24 horas en busca de cambios clínicos, radiológicos, serológicos y funcionales. Con este objetivo se le midieron signos vitales cada hora, pruebas de función pulmonar (espirometría) cada 2 horas por 24 horas, exámenes físico, radiológico y serológico antes y 24 horas posteriores al reto.

**Antígeno utilizado para la prueba de reto.** Se utilizó suero de palomas. Se sacrificaron 20 palomas de diferentes edades a las que se les puncionó el corazón para obtener sangre la que se procesó en tubos estériles. Se dejó reposar durante una hora para remover el coágulo remanente. Posteriormente se centrifugó a 1500 rpm durante 15 minutos para obtener el suero. De éste se tomó una porción para determinar el contenido total de proteínas (de experimentos previos en nuestro laboratorio sabemos que oscila entre 30 a 40 mg/ml). El objetivo era el de ajustar el contenido total de proteínas a 30 mg/ml, en todas las ocasiones en que se requiriera obtener suero de otras aves. Posteriormente, con el objeto de descomplementar la muestra, el suero se calentó a 56°C durante una hora. Para garantizar la esterilidad

enfermedad. Este grupo de sujetos estuvo formado por los familiares de los pacientes, con un grado similar de exposición a las aves que los pacientes.. A todos ellos se les realizó pruebas de función pulmonar (ver abajo) antes y después del reto antigénico. Las previas a la prueba de reto se utilizaron con dos objetivos. inicialmente para establecer que los sujetos no tuvieran alteraciones en la función pulmonar. y posteriormente para evaluar posibles cambios secundarios a la prueba de reto.

### **EJECUCION DEL ESTUDIO.**

El reto se realizó a ciegas, esto es, sin saber si el paciente cursaba con AAE o con otra entidad diferente. Al paciente se le vigiló las siguientes 24 horas en busca de cambios clínicos, radiológicos, serológicos y funcionales. Con este objetivo se le midieron signos vitales cada hora, pruebas de función pulmonar (espirometría) cada 2 horas por 24 horas, exámenes físico, radiológico y serológico antes y 24 horas posteriores al reto.

**Antígeno utilizado para la prueba de reto.** Se utilizó suero de palomas. Se sacrificaron 20 palomas de diferentes edades a las que se les puncionó el corazón para obtener sangre la que se procesó en tubos estériles. Se dejó reposar durante una hora para remover el coágulo remanente. Posteriormente se centrifugó a 1500 rpm durante 15 minutos para obtener el suero. De éste se tomó una porción para determinar el contenido total de proteínas (de experimentos previos en nuestro laboratorio sabemos que oscila entre 30 a 40 mg/ml). El objetivo era el de ajustar el contenido total de proteínas a 30 mg/ml, en todas las ocasiones en que se requiriera obtener suero de otras aves. Posteriormente, con el objeto de descomplementar la muestra, el suero se calentó a 56°C durante una hora. Para garantizar la esterilidad

de la muestra se pasó a través de un filtro de  $0.22 \mu$ . La muestra con la que se retó al paciente, se diluyó a 1/100 y siempre se utilizaron 5 ml de tal solución (1.5 mg en total de suero de aves).

#### **Administración del reto.**

La solución se administró utilizando un nebulizador continuo (tipo Hudson) que emite micropartículas ( $<5 \mu$ ). Debido a que la cantidad de partículas emitidas depende del flujo con que se nebulice y que la cantidad de partículas aspiradas podría variar con la frecuencia respiratoria, la frecuencia de los suspiros y el volumen pulmonar inicial que el paciente presente, el flujo siempre se ajustó a 4 L/min y se le solicitó al paciente que respirara a su propio ritmo. Con estas modificaciones los 5 ml de solución con el antígeno siempre se terminaron en aproximadamente 30 minutos con lo cual se aseguró un aprovechamiento uniforme de la muestra. No obstante de que este cálculo es producto de experimentos previos que hemos realizado, consideramos que independiente de los factores que influyen en la penetración y aprovechamiento de las partículas nebulizadas (28), el error siempre fué el mismo para todos los pacientes, ya que se mantuvieron constantes las demás variables.

Con objeto de evitar que el antígeno nebulizado se dispersara en otros sujetos que estuvieran en el cubículo del paciente retado, la prueba se realizó en el jardín contiguo al cuarto del paciente permitiendo la dispersión de las partículas en una área abierta.

## **VARIABLES A MEDIR**

### **Pruebas de Función Pulmonar.**

A todos los pacientes que se incluyeron en el estudio se les realizaron pruebas de función pulmonar consistentes en espirometría, pletismografía, difusión de monóxido de carbono, saturación de oxígeno y gases arteriales. Estos estudios sirvieron inicialmente como parte del abordaje diagnóstico y posteriormente se utilizaron como las mediciones basales de la función pulmonar y en las cuales de acuerdo a la hipótesis asumida en este trabajo, se observaría una disminución en estas pruebas después de haber sometido al paciente a la prueba de reto. Con objeto de disminuir la variabilidad inter-prueba introducida por diferentes técnicos durante su aplicación, las pruebas fueron realizadas siempre por la alumna de maestría.

La espirometría se realizó con un espirómetro digital (Pony). Se midieron en cada ocasión tres espiraciones forzadas de buena calidad y se tomó la mejor de acuerdo a las recomendaciones de la Sociedad Americana de Tórax (ATS) (29). Esta prueba se realizó cada media hora durante las dos primeras horas posteriores al reto y después cada 2 horas durante 24 horas. Los volúmenes pulmonares se midieron con un pletismógrafo corporal (Body Jaegger). De esta prueba se obtuvieron 24 horas antes y posteriores al reto, el volumen residual (VR) y la capacidad pulmonar total (CPT). La DLco se realizó con un equipo computarizado (Jaegger). Se obtuvieron cuando menos dos maniobras y la diferencia entre ellas no fué mayor del 5%. Cuando la diferencia fué mayor, se hizo una tercera maniobra. El promedio de las dos más cercanas se utilizó para el reporte de la prueba. Esta prueba también se realizó 24 horas posteriores al reto. Los gases arteriales se obtuvieron respirando aire ambiente a través de una punción en la arteria radial, éstos se tomaron previos a la prueba y a las 24 hrs. La saturación de oxígeno se midió a su ingreso con un oxímetro digital



(marca physio-control) en dos ocasiones diferentes, una respirando una  $FI_{O_2}$  de 21% y otra respirando oxígeno suplementario hasta llevar la saturación igual o arriba del 90%. El registro de la saturación post-reto se hizo cada hora durante las 24 horas siguientes con los L/min que el paciente requirió para obtener una saturación de 90%.

#### **Variables Clínicas.**

Se registró frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca, temperatura, tensión arterial, sensación de disnea, cianosis y estertores. Una vez que se obtuvieron las condiciones basales de estas variables, el paciente se sometió a la prueba de reto. Posteriormente estas variables se midieron cada hora los primeras dos horas y después cada dos horas por 24 horas. La evaluación de estas variables durante las primeras dos horas tuvo como objetivo detectar una respuesta inmediata de "tipo asmático" (10) caracterizada básicamente por disnea y sibilancias. Se consideró una caída del 15% del  $VEF_1$  para considerar una respuesta de tipo bronquial. Posteriormente se continuaron las mediciones horarias de acuerdo al protocolo de trabajo en espera de una posible respuesta tardía. La sensación de disnea se cuantificó pre-reto, a las 8 y 24 horas post.reto. La medición se obtuvo con una escala análoga visual para pacientes con enfermedad intersticial difusa, cuya reproducibilidad recientemente hemos demostrado en nuestro Instituto (30).

#### **Pruebas sanguíneas,**

Se obtuvieron una biometría hemática con diferencial de la fórmula blanca, velocidad de sedimentación globular, inmunoglobulinas un día previo y 24 horas después de la prueba de reto

#### **.Examen radiológico.**

La radiografía de tórax se realizó en forma basal y 24 horas después del reto.

## **ESTANDAR DE ORO**

El estandar de oro se realizó en forma independiente al resultado obtenido de la prueba de reto. Este fué emitido por dos médicos expertos en la enfermedad y que no estuvieron involucrados en la prueba. El estandar de oro se conformó por los 8 criterios mencionados para el diagnóstico de AAE, incluyendo la biopsia pulmonar. Con el objeto de evitar influencias secundarias al acto quirúrgico, la biopsia se realizó después de que la prueba de reto y las mediciones funcionales post-reto se hubieran hecho. Además, la obtención posterior del resultado evitó que las mediciones secundarias al reto no fueran influenciadas por el conocimiento previo casual del diagnóstico.

## **CUESTIONARIO PARA LA OBTENCION DE DATOS EPIDEMIOLOGICOS**

Se realizó un cuestionario en relación al tipo de exposición a las aves, el cual fue diseñado específicamente para este trabajo. Muchos de los pacientes tenían más de una exposición durante su vida, es decir, pudieron haber tenido contacto con las aves en su infancia, después dejar de exponerse sin presentar ningún síntoma y nuevamente en su vida adulta re-exponerse a las aves. Para este trabajo, se consideraron los datos de la exposición más reciente y/o la exposición que tuviera relación con el inicio de los síntomas de la enfermedad.

La intensidad o magnitud de la exposición a las aves se calificó con una escala categórica que iba desde ninguna, leve, moderada o severa como se explica en el párrafo siguiente:

- Ninguna exposición = Sin convivencia con aves
- Exposición leve = El sujeto convive con menos de 3 aves y las aves se encuentran en el patio de su casa o con vecinos.

- **Exposición moderada** = El sujeto convive con 4 a 9 aves en el patio de su casa, o menos de 4 aves dentro de su casa, pero no en la habitación donde duerme.
- **Exposición severa** = El sujeto convive con más de más de 10 aves en el patio de su casa, 9 aves dentro de su casa, o con una, pero en la habitación donde duerme, o de su casa

### **ANALISIS ESTADISTICO.**

Los datos fueron analizados utilizando tablas 2 x 2. La sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivo y negativo se obtuvieron utilizando fórmulas convencionales. Para cada variable se graficó a diferentes valores, sensibilidad versus 1-especificidad (curvas ROC) con el objeto de encontrar los valores más útiles para la prueba. Los cambios post-reto se compararon a través de las deltas entre los 3 diferentes grupos de estudio, para lo cual se utilizó análisis de varianza, o en caso de únicamente dos comparaciones, “t” de Student para muestras independientes. Para obtener correlaciones entre las diferentes variables se utilizó la “r” de Pearson. Se realizó un modelo de regresión logística uni y multivariado para predecir que variables post-reto predecían a la AAE.

### **ASPECTOS ETICOS**

#### **Generalidades**

El uso de antígenos orgánicos como pruebas de reto ha sido tema de discusión. En términos generales la prueba es segura siempre y cuando se sigan las recomendaciones apropiadas para la seguridad del paciente (16). La prueba no

significa sensibilización antigénica en pacientes que ya tienen anticuerpos circulantes contra el antígeno aviario. En el caso de controles en quienes no haya estos anticuerpos circulantes (solo puede ser en pacientes con FPDE), la prueba no es capaz de producir la enfermedad si no existe sensibilización continua. Esto lo demostramos en un estudio abierto donde incluimos a 8 pacientes con Fibrosis Pulmonar Idiopática los cuales, después de nebulizarles el antígeno aviario no respondieron a la prueba. Con el objeto de garantizar que el antígeno inhalado por el paciente se dispersara en el aire ambiente, las pruebas se hicieron en el jardín del Servicio Clínico donde se encuentran hospitalizados los pacientes. Esto permitió adicionalmente tener al paciente en la vecindad de una terapia intermedia y del servicio de urgencias, en caso de que se requiriera mayor atención secundaria al reto antigénico, donde se cuenta con equipo de resucitación y reanimación. A todos los pacientes y sujetos del estudio se les leyó y pidió que firmaran una carta de consentimiento en la que se explicaba claramente el procedimiento.

### **Riesgos posibles.**

**1.- En pacientes con AAE.** Para establecer el diagnóstico en este grupo de pacientes es preciso que tengan anticuerpos circulantes contra el antígeno aviario. Esto implica, que el paciente ya estuviera sensibilizado y en este sentido, la prueba de reto no significará un riesgo adicional para el paciente (que está constantemente expuesto en su hogar). Reacciones probables: Hargreave y Pepys (10) nebulizaron antígeno aviario (suero o excremento) a 39 personas con evidencia clínica de alergia a las aves y a 42 sin esta evidencia. En los sujetos con evidencia de alergia a las aves 36 presentaron diferentes tipos de reacciones. En 5 la reacción fue de tipo inmediato (asmático), 27 de tipo tardío, y en 4 una reacción dual. La fiebre fue la reacción sistémica más común. Otras reacciones como náuseas, cefalea, vómitos, etc. se

presentaron en un porcentaje mínimo de los pacientes. Desde el punto de vista funcional la caída del VEF<sub>1</sub> y la CVF varió de 200 a 900 ml y de 150 a 950 ml respectivamente en los sujetos que presentaron la reacción tardía. Estas alteraciones se resolvieron en las siguientes 24 horas. En el estudio piloto que realizamos en el INER con 5 pacientes con AAE, la caída máxima de la CVF ha sido de 350 ml. Resultados similares han sido reportados en otros trabajos (8-11). De acuerdo a estos antecedentes los efectos inmediatos y tardíos secundarios a la prueba de reto tanto en los reportes de otros autores como con los pacientes del grupo piloto que estudiamos, se resumen a síntomas sistémicos que en ningún caso amenazan la seguridad de los pacientes.

Llamaremos **reacción adversa**, a la progresión de la disnea que condujera al paciente a fatiga muscular, insuficiencia respiratoria aguda (aumento de la PaCO<sub>2</sub> y/o persistencia de hipoxemia con fracciones inspiradas de O<sub>2</sub> mayores de 40%), requiriendo cuidados intermedios o intensivos.

El tratamiento convencional para los pacientes con AAE es a base de esteroides. Una vez que a los pacientes se les integre el diagnóstico definitivo se les iniciará tratamiento con prednisona, con lo cual se evita que cualquier proceso inflamatorio re-iniciado con la prueba de reto, se perpetúe.

No hay evidencia actual de que una nebulización adicional con antígeno aviario deje como secuela fibrosis pulmonar. En el estudio de Hendrick y cols. (18) trece pacientes fueron estudiados entre 5 a 33 meses posteriores al reto. Las pruebas de función pulmonar prácticamente regresaron a los niveles pre-reto, no obstante, hubo dos pacientes en quienes se registró un leve deterioro. Sin embargo, estos pacientes habían mejorado 48 horas después del reto, por lo que es probable que el deterioro observado no haya sido necesariamente secundario a la prueba de reto. La población original en el estudio de Hendrick (18) fué de 29 pacientes y solo siguieron en el

tiempo a 13 de ellos. Se ignora porque sólo se siguió a este número de pacientes, pero es probable que las razones por las que los pacientes dejaron de asistir y/o siguieron asistiendo estén relacionadas con la gravedad subyacente de la enfermedad y eso haya condicionado la vigilancia médica a la que se sometieron. El promedio de exposición al antígeno aviario de un grupo de pacientes del INER que estudiamos (6) fué de  $3.4 \pm 2.4$  años. En el trabajo de Hargreave y Pepys (19) el promedio de exposición de los pacientes fue de 14 años y en todos ellos la recuperación ocurrió a las 24-48 horas posteriores al reto. En trabajos previos de nuestro grupo hemos observado que el tiempo de exposición a las aves no guarda relación con la severidad ni con el pronóstico de la enfermedad (3). Estos antecedentes refuerzan el argumento de que una inhalación adicional de dosis mínimas de suero de aves no provocará fibrosis pulmonar en los pacientes que sean sometidos al reto.

**2) En pacientes con otra neumopatía diferente a la AAE (FPDE).** Si bien, es probable que la prueba de reto sensibilice contra el antígeno aviario a pacientes que nunca hayan estado expuestos a aves, también puede ocurrir que tal sensibilización no ocurra. En el estudio de Hargreave y Pepys (19), de los 42 sujetos sin evidencia de alergia a las aves a quienes les nebulizaron suero de aves, sólo el 11% desarrolló anticuerpos contra tal antígeno. Además, ninguno de estos sujetos presentó reacciones compatibles con hipersensibilidad al antígeno aviario. Por lo tanto, es probable que si el paciente no es hipersensible, no reaccione de ninguna forma. Además los pacientes serán evaluados a las 24 horas, al mes y a los 6 meses posteriores al reto en busca de anticuerpos circulantes. Esto permitirá conocer si el paciente fué sensibilizado o no. Si éste fuera el caso, al paciente se le recomendará evitar la cercanía con las aves por la posibilidad de una reacción de hipersensibilidad.

**3) Sujetos sanos asintomáticos expuestos al antígeno aviario con anticuerpos circulantes presentes (SA).** La prueba de reto tampoco significará sensibilización en estos sujetos pues ya lo estarán. A este grupo se les pedirá que permanezcan hospitalizados durante el día del reto y serán vigilados de la misma forma que los pacientes. La prueba de reto puede o no producir una reacción similar a la de los pacientes. En caso afirmativo, el sujeto sería sometido a un curso de esteroides. En este caso la prueba estaría detectando enfermos que de otra forma se escaparían de tal diagnóstico. Es probable que en la práctica esto ocurra con los familiares de los enfermos, pues una vez que se ha establecido el diagnóstico en ellos, se les recomienda que se deshagan de las aves con las que convivían. Esto propicia que el resto de los familiares expuestos, dejen de exponerse y por lo tanto no desarrollen síntomas de enfermedad. Sin embargo, el riesgo es que ignoran que el contacto posterior con aves podría desencadenar una enfermedad que es peligrosa e incapacitante. Esta sería una de las ventajas que se obtendrían de este trabajo (ver abajo). Sin embargo, nuestra hipótesis asume que estos sujetos, por razones que desconocemos, no responderán a la prueba de reto con antígeno aviario.

### **COSTOS**

No se le solicitó a los pacientes pago por los estudios adicionales a los que fueron sometidos.

## **RESULTADOS**

Ochenta sujetos con diversas neumopatías intersticiales fueron entrevistados para realizarse prueba de reto, de los cuales 35 fueron excluidos por presentar riesgo quirúrgico elevado y no poderse someter a la biopsia pulmonar; dos sujetos no aceptaron su participación en el estudio y tres fueron eliminados por contar con otros diagnósticos diferentes a los incluidos.

De los 45 individuos que fueron sometidos a la prueba de reto con antígeno aviario, tres fueron eliminados posteriormente ya que aunque tenían antecedente de exposición a las aves, y AcAv positivos el resultado histológico fue FPI y no compatible con AAE. En este sentido, el análisis de nuestros resultados se hizo con 42 sujetos; 17 con AAE, 17 con FPDE y 5 SA.

Del grupo FPDE, los diagnósticos fueron los siguientes: FPI (n=11), bronquiolitis obliterante (n=2), granuloma eosinófilo (n=1), microlitiasis (n=1), linfangioleiomiomatosis (n=1) y neumonitis intersticial inespecífica (n=1). Los sujetos asintomáticos fueron familiares de los pacientes con AAE.

Antes de someterse a la prueba de reto, a todos los pacientes se les realizó en dos ocasiones con intervalo de 24 horas, mediciones de función respiratoria con el objetivo de conocer la variabilidad intrínseca de las mediciones y tener seguridad de que los cambios registrados posteriores a la prueba de reto no fueran producto de la variabilidad intrínseca de la misma, sino propios de la reacción pulmonar. Estos datos se encuentran resumidos en la tabla 1 donde se muestran el coeficiente de correlación intra-clase y coeficiente de variabilidad para las diferentes pruebas. Después de estos resultados se decidió no considerar el volumen residual y la capacidad funcional residual como indicadores de cambio en la función pulmonar ya que fueron las mediciones con mayor variabilidad. La CVF y el VEF1 fueron las



pruebas con menor variabilidad (2% y 3% respectivamente) y mejor coeficiente de correlación intraclase (0.99 y 0.98).

En la tabla 2 se encuentran resumidas las características generales de los tres grupos estudiados. En relación al sexo, en el grupo con AAE el 88% se conformó por mujeres siendo lo opuesto en el grupo FPDE en que el 60% pertenecieron al sexo masculino. En relación a la edad, los pacientes con AAE fueron discretamente más jóvenes en comparación a los sujetos con FPDE. El grupo SA resultó más joven que los otros dos grupos, porque se incluyeron a los hijos de los pacientes con AAE que se sometieron a la prueba

En relación a los datos epidemiológicos sobre exposición a las aves, en la tabla dos se resume la información de este cuestionario. Para el grupo AAE el tiempo de exposición fue de una mediana de 18 meses con extremos de tres a docientos cuarenta meses. El grupo FPDE tuvo una mediana de 8 meses con extremos desde cero meses a 300 meses y en el grupo SA la mediana de exposición fue de 45 meses con extremos de 24 a 72 meses. En relación al número de aves el grupo SA tuvo más aves (mediana de 26), siguiendole en frecuencia el grupo AAE y la mediana para FPDE fue de 3 aves. En realidad, el grupo de sujetos asintomáticos (SA) presentaba tanto en el número de aves como tiempo de exposición cifras mayores que el grupo de AAE, debido a que estuvo constituido por azar, por 5 familiares de los pacientes en quienes estas variables eran mayores y no participaron en el estudio familiares de pacientes en quienes estas variables eran menores.

En cuanto a la intensidad de la exposición, 88% de los pacientes con AAE tuvieron exposición de moderada a severa. En el grupo FPDE la exposición fue menor: 17% de los sujetos no había tenido exposición a las aves y un 40% una exposición leve. Por otra parte, el grupo SA fue similar al grupo AAE, es decir, el 80% tuvo una exposición de moderada a severa.

La densidad óptica (DO) del AcAv para el grupo AAE fue  $1.12 \pm 0.70$  (resultado positivo a partir de 0.22 DO.), para los pacientes con FPDE la DO fue muy baja, con promedio de  $0.061 \pm 0.50$  y nuevamente el grupo SA se comportó de manera similar a los de AAE. con títulos en promedio de  $1.078 \pm 0.97$  DO.

En la tabla 3 se encuentran resumidas las pruebas basales pre-reto de función respiratoria para los tres grupos. Aunque hubo diferencias significativas a través del análisis de varianza para la CPT, CVF, VEF1, DLco y DLco/VA, estas diferencias como se esperaba, se debieron al grupo SA, pero no las hubo entre el grupo de AAE y FPDE. Así, es conveniente destacar que de acuerdo a las pruebas de función pulmonar, los pacientes del grupo con AAE eran similares a los pacientes FPDE y por lo tanto, los cambios observados en relación a la prueba de reto no son atribuibles a diferencias en alguna de estas variables entre los grupos.

#### **Respuesta a la prueba de reto:**

**a) Respuesta inmediata:** Ningún sujeto presentó una reacción inmediata. No se observaron síntomas agudos sugestivos de hiperreactividad bronquial y por lo tanto no se requirió la administración de algún beta 2 agonista como se contempló en el diseño del proyecto. Una paciente con diagnóstico de bronquiolitis obliterante, mostró disminución del VEF1 del 20%, pero este cambio se observó durante las mediciones nocturnas; además, no manifestó síntomas agudos, por lo que no se le administro broncodilatador.

Asimismo, ninguno de los 3 grupos refirió algún síntoma o malestar inmediato a la inhalación del AgAv.

#### **b) Respuesta tardía**

Veinte sujetos tuvieron una prueba tardía positiva iniciando manifestaciones secundarias al reto 4 horas después de su aplicación.

Es conveniente señalar que la positividad se determinó después de la obtención de la biopsia pulmonar, cuando se evaluaron la sensibilidad y especificidad de las diferentes variables clínicas y funcionales de acuerdo a los mejores puntos de corte obtenidos con las curvas ROC (estas curvas se analizarán más adelante).

Todos los sujetos que tuvieron una prueba positiva presentaron fiebre, la que se transformó en el parámetro más útil para el diagnóstico de una prueba positiva. Además la mayoría presentó algún síntoma sistémico que usualmente precedió a la fiebre. Diecinueve sujetos cursaron con escalofríos y cefalea, 17 tuvieron artralgias, 5 presentaron congestión nasal y estornudos y 2 náusea y vómito. El vómito y dolor de articulaciones ocurrió en los sujetos que tuvieron una reacción más severa. De los síntomas respiratorios 13 cursaron con tos de grado variable y 14 manifestaron algún grado de disnea. De los 17 sujetos que tuvieron AAE, 14 respondieron a través de un cuestionario que los síntomas que presentaban en ese momento ya los habían tenido antes, desde el inicio de su enfermedad en forma intermitente.

En la tabla 4, se describen diferentes variables de laboratorio, así como la temperatura obtenidas antes y después de la prueba de reto, junto con sus respectivas deltas. Ninguna de estas pruebas de laboratorio mostró cambios significativos posteriores al reto. Los leucocitos en el grupo de AAE tendieron a elevarse, muy probablemente a expensas de los neutrófilos ya que también éstos se incrementaron ( $p=0.11$ ). El análisis de inmunoglobulinas circulantes tampoco mostró diferencias significativas entre los valores obtenidos antes y después del reto antigénico.

En cambio para la temperatura el grupo de AAE mostró cambios estadísticamente significativos cuando se compararon las deltas con los otros dos grupos ( $p<0.001$ ). Como puede observarse, en el grupo de AAE, la temperatura se incrementó 2.35 °C, mientras que en los otros dos grupos el incremento no fue significativo. Los cambios de la temperatura en los diferentes grupos se muestran en la gráfica 1, donde llama la

atención en el grupo FPDE, dos valores extremos (fuera de la caja), pero que en el análisis final coincidieron con los falsos positivos.

En la tabla 5 se encuentran los cambios de función respiratoria post-reto. Para la CVF expresada en ml, en los tres grupos las deltas fueron mayores a 100ml. Sin embargo, el grupo con AAE presentó una caída de más de 200 ml, significativamente mayor a los otros dos grupos ( $p < 0.001$ ). En la gráfica 2 se esquematiza la disminución de la CVF en porcentaje; se puede observar que en la percentila 50 el grupo de AAE presenta una disminución del 20%, aunque existe un sujeto en el que su CVF cae en más del 60%. Para el grupo de FPDE los valores se distribuyen en un rango mucho más estrecho.

En relación a la CPT, el grupo de AAE mostró un decremento superior a 300 ml, en cambio el grupo FPDE presentó una disminución de menos de 15 ml y el grupo SA tuvo un decremento de 112 ml (Tabla 5). Sin embargo, solo en el grupo de AAE el cambio con respecto a los otros dos grupos fue significativo ( $p < 0.001$ ).

La  $\text{PaO}_2$ , la cual sólo fue medida en los pacientes, presentó una disminución post-reto en promedio, de 7.71 mm Hg para el grupo de AAE, en tanto que en el grupo FPDE solo alcanzó una caída de 2 mm Hg (Tabla 5 ; $p < 0.001$ ). En la gráfica 3 se ilustran estos resultados en percentilas y se puede observar como en el caso de los cambios de la temperatura (gráfica 1), 2 pacientes con FPDE mostraron valores que se salen de la caja y que en el análisis posterior correspondieron a los falsos positivos. Para el grupo AAE la saturación de oxígeno, tuvo una disminución promedio de 5.5%; para el grupo FPDE el decremento fue de 1% y no hubo variación en el grupo SA (Tabla 5; $p < 0.001$ ).

No hubo ningún cambio significativo para la DLco ni para la  $\text{PaCO}_2$ .

En la figura 1, se pueden observar los cambios en la CVF medida cada dos horas por 24 horas para los tres grupos. La máxima caída de esta variable resultó a las 10 horas para el grupo AAE. En los el grupos de FPDE y SA las mediciones se mantuvieron constantes. El análisis de varianza para muestras repetidas mostró cambios significativos en el tiempo para la AAE, ( $p < 0.01$ ) pero no para los otros dos grupos. La forma de la curva de la CVF del grupo de AAE muestra un descenso inicial alrededor de las 4 hrs, con una caída máxima en las siguientes horas y a partir de las 10 horas regresa hasta su basal.

En la figura 2, se esquematizan los cambios ocurridos en la temperatura corporal cada 2 horas durante 24 horas para los tres grupos. Se analizó si las modificaciones ocurridas en el tiempo eran significativas. El análisis de varianza para muestras repetidas resultó ser significativo para el grupo AAE y no para los grupos FPDE y SA. En el grupo de AAE, a partir de las 4 horas posteriores a la prueba de reto se observa un incremento en los grados centígrados, que llega a su máximo a las 10 hrs para comenzar a disminuir en forma gradual. A las 18 horas se encontraba por debajo de  $37^{\circ}\text{C}$ . Para el grupo FPDE aunque también existe un incremento de la temperatura, éste no rebasa en promedio los  $37^{\circ}\text{C}$  y el tiempo de este incremento es menor en relación al grupo con AAE. Para el grupo SA, la temperatura no mostró cambios en el tiempo.

No hubo ninguna correlación entre la caída de la CVF y aumento de la temperatura corporal. Sin embargo, ambas variables mostraron su alteración máxima a las 10 horas post-reto.

La figura 3 muestra la curva ROC para la temperatura y se puede observar que el mejor punto de corte fue el  $a$  (aumento de la temperatura mayor a  $0.5^{\circ}\text{C}$ ). En la figura 4 se observa las curva ROC para CVF, y el mejor punto de corte fue el  $c$  (caída mayor al 16%). La figura 5 muestra las curvas ROC para la saturación y

PaO<sub>2</sub>. Para ambas variables el mejor punto está representado por el  $a$  (caída mayor de 3% de saturación y de 3 unidades torr).

Una vez obtenidas las curvas ROC para las diferentes variables se evaluó la sensibilidad, especificidad, y valores predictivos de los mejores puntos de corte. La tabla 6 resume estos resultados. Para una caída de la CVF mayor o igual al 16% su sensibilidad fue de 76%, especificidad de 86% valor predictivo positivo de 81% y valor predictivo negativo de 83%. Para un aumento en la temperatura mayor de 0.5°C, la sensibilidad fue de 100%, especificidad de 81%, valor predictivo positivo de 100% y valor predictivo negativo de 86%. Para una disminución de la PaO<sub>2</sub> mayor o igual a 3 unidades torr la sensibilidad y especificidad fue de 82%, el valor predictivo positivo fue de 77% y el valor predictivo negativo fue de 77%. Para una caída de la saturación de oxígeno mayor o igual a 3% la sensibilidad fue de 82%, especificidad de 86%, valor predictivo positivo de 82% y valor predictivo negativo de 82%. La CPT tuvo una sensibilidad menor del 40%, por lo que se consideró que no era una variable útil.

Ninguna combinación de las variables estudiadas resultó mejor que la temperatura considerada en forma independiente.

Para darle una mayor fuerza a los cálculos anteriores, se realizó un modelo de regresión logística múltiple, para determinar qué variables podrían predecir mejor la AAE. Se tomaron en cuenta para este modelo todos los parámetros que habían tenido algún cambio post-reto. Los modelos univariados y multivariado confirmaron que las únicas variables que en forma independiente pudieron predecir la enfermedad fueron el incremento en la temperatura mayor a 1°C y la disminución de la CVF. (Ver modelos). En el análisis multivariado la CVF ya no fue predictora, pero sí la temperatura.

Tomando en consideración los resultados obtenidos con la curva ROC y el modelo de regresión logística, se consideró una prueba positiva cuando un paciente presentaba un aumento de la temperatura mayor de 0.5°C. La disminución de la CVF del 16%, de la saturación de oxígeno de 3% y de la PaO<sub>2</sub> de 3 unidades torr se mostraron como indicadores adicionales y junto con alguna manifestación sistémica, apoyan que una prueba de provocación con AgAv es positiva.

Cuando se examinó el valor predictivo positivo y negativo, después de obtener el estándar de oro (esto es, después de la biopsia) y después de haber establecido a que llamar una prueba positiva, se encontró que los 17 sujetos con LAE resultaron con la prueba de reto positiva (valor predictivo positivo 100%). En el grupo FPDE después de establecer el estándar de oro, 14 resultaron con prueba negativa (valor predictivo negativo de 86%).

En relación a posibles efectos colaterales, ningún paciente presentó complicaciones. De hecho a pesar de que los pacientes tuvieron disminución en la saturación de oxígeno durante la prueba, a todos se les administró el oxígeno suplementario adecuado para que nuevamente tuvieran una saturación mayor del 90%, y en promedio requirieron 1 litro de oxígeno por minuto.

## **DISCUSION**

La AAE secundaria a antígeno aviario es, en México, una enfermedad con características muy peculiares que la distinguen claramente de las otras enfermedades que afectan el parénquima pulmonar. Es la causa más común de fibrosis pulmonar en el INER y por lo tanto, la enfermedad intersticial que con mayor frecuencia conduce a insuficiencia respiratoria crónica, incapacidad física y muerte a mediano plazo. A diferencia de lo que se reporta en la literatura, en México no se le considera una enfermedad benigna y su presencia está asociada a una mortalidad que está por arriba del 20% a 5 años (7). Cuando se ajusta por el grado de fibrosis, la mortalidad no es diferente a la reportada en los pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (más de 50% a 5 años).

Por otro lado, en una apreciable proporción de pacientes el diagnóstico no se puede establecer aún con el reporte histológico. Esta proporción está constituida por casos de AAE crónica en estadios avanzados que histológicamente son indistinguibles de otros tipos de fibrosis.

Un problema diagnóstico adicional lo constituye un importante grupo de pacientes a quienes no se les practica la biopsia pulmonar por tener un alto riesgo quirúrgico. A estos pacientes se les establece un diagnóstico presuntivo de AAE únicamente con evidencias funcionales y radiológicas, el antecedente de exposición a las aves y serología positiva para antígeno aviario. El problema potencial que se genera, es el de concluir un diagnóstico erróneo. En la población mexicana, debido a la alta prevalencia de exposición doméstica a las aves, estos sujetos pueden además tener AcAv y sin enfermedad pulmonar relacionada con dicha exposición. En otras palabras, un paciente puede tener una bronquiolitis obliterante o una FPI, con exposición a las aves, AcAv positivos, y por presentar un cuadro clínico de neumopatía intersticial se le diagnostica como AAE.



En circunstancias en las que el diagnóstico continua incierto, eventualmente se ha recurrido al uso de las pruebas de provocación o reto, cuyo objetivo es reproducir un cuadro agudo similar al que ocasiona la exposición al antígeno. Desafortunadamente, aún cuando se han llevado a cabo algunos estudios sobre la utilidad de las pruebas de reto, no existen reportes formales que intenten uniformar o estandarizar estas pruebas para determinar su papel diagnóstico. La mayor parte de los trabajos que existen no son metodológicamente confiables, por lo que la utilidad de las pruebas de provocación con antígeno aviario para el diagnóstico de la AAE es en la actualidad dudosa.

El problema común al que se han enfrentado la mayoría de los reportes sobre la validez de este tipo de pruebas, es la incapacidad para establecer un estandar de oro. En el estudio de Hendrick y cols (18) de 29 sujetos estudiados, solo a seis se les estableció con certeza el diagnóstico, y sin embargo, de ninguno se obtuvo especimen histológico a través de la biopsia pulmonar. En los restantes sujetos el diagnóstico no fue concluyente, y la parte más débil de su trabajo es que la prueba de reto se utilizó como parte del diagnóstico por lo que presentaba un sesgo de inclusión (31).

Nuestro trabajo se llevó a cabo con la utilización de una metodología estricta para una prueba diagnóstica (23). Es decir, se puso cuidadosa atención al integrar el diagnóstico definitivo de presencia o ausencia de la enfermedad en cuestión (elección del estandar de oro), y se intentó evitar todo posible sesgo para establecerlo. Para ello, se utilizó un conjunto de determinaciones como el reporte histológico, la serología positiva contra el antígeno aviario y el antecedente de exposición a las aves, entre otras. Además, durante la ejecución de la otra parte crítica de este trabajo, es decir la definición de una prueba de reto como positiva o negativa, se escogieron las variables que por un lado expresaran restricción

pulmonar en forma incontrovertible y que por otro lado tuvieran un alto grado de reproducibilidad. Se tuvo cuidado de añadir variables clínicas y de laboratorio que expresaran un proceso agudo.

Por otro lado, el estudio fue rigurosamente hecho a ciegas. La persona que realizó la prueba desconocía el diagnóstico; los médicos que colaboraban en el estudio, estaban instruidos a no interesarse por el diagnóstico y la biopsia pulmonar siempre se realizó después de la prueba de reto y por lo tanto se desconocía el diagnóstico definitivo. Otra forma más de ceguera estuvo determinada por los tiempos en los que se decidió hacer el análisis de los cambios relacionados a la prueba de reto en el estudio. Es decir, se decidió hasta el final del trabajo a que llamar prueba positiva o negativa en base a los puntos de corte que se obtuvieron de las curvas ROC de las diferentes variables y no a lo que se observaba individualmente en cada paciente cuando se le realizaba la prueba. El conjunto de las estrategias llevadas a cabo en este trabajo nos permiten asumir que estuvo completamente cegado en los términos de una prueba diagnóstica (23).

Para los controles, es decir para los pacientes con FPDE, el estándar de oro se estableció de manera similar en términos de la biopsia pulmonar y la ceguera en su integración. Al único grupo al que no se les sometió a biopsia pulmonar ni a gasometría por razones obvias fue al grupo de controles sanos (SA).

Un punto crítico para la interpretación de los resultados de este trabajo fue la reproducibilidad de las mediciones que se utilizaron para concluir que una prueba de reto era positiva o negativa. Debido a que el objetivo de este estudio fue determinar el cambio en las pruebas de función pulmonar y de laboratorio después del reto antigénico, era indispensable tener la certeza que los cambios observados no fueran

pulmonar en forma incontrovertible y que por otro lado tuvieran un alto grado de reproducibilidad. Se tuvo cuidado de añadir variables clínicas y de laboratorio que expresaran un proceso agudo.

Por otro lado, el estudio fue rigurosamente hecho a ciegas. La persona que realizó la prueba desconocía el diagnóstico; los médicos, que colaboraban en el estudio, estaban instruidos a no interesarse por el diagnóstico y la biopsia pulmonar siempre se realizó después de la prueba de reto y por lo tanto se desconocía el diagnóstico definitivo. Otra forma más de ceguera estuvo determinada por los tiempos en los que se decidió hacer el análisis de los cambios relacionados a la prueba de reto en el estudio. Es decir, se decidió hasta el final del trabajo a que llamar prueba positiva o negativa en base a los puntos de corte que se obtuvieron de las curvas ROC de las diferentes variables y no a lo que se observaba individualmente en cada paciente cuando se le realizaba la prueba. El conjunto de las estrategias llevadas a cabo en este trabajo nos permiten asumir que estuvo completamente cegado en los términos de una prueba diagnóstica (23).

Para los controles, es decir para los pacientes con FPDE, el estándar de oro se estableció de manera similar en términos de la biopsia pulmonar y la ceguera en su integración. Al único grupo al que no se les sometió a biopsia pulmonar ni a gasometría por razones obvias fue al grupo de controles sanos (SA).

Un punto crítico para la interpretación de los resultados de este trabajo fue la reproducibilidad de las mediciones que se utilizaron para concluir que una prueba de reto era positiva o negativa. Debido a que el objetivo de este estudio fue determinar el cambio en las pruebas de función pulmonar y de laboratorio después del reto antigénico, era indispensable tener la certeza que los cambios observados no fueran

producto de la variabilidad de la prueba sino del efecto del reto. Para ello se demostró la reproducibilidad de las pruebas de función pulmonar en 42 pacientes (todos incluidos en este trabajo). Esto permitió determinar que un cambio del 16% en la CVF identificaría con razonable certeza a los pacientes en quienes el reto fuera positivo. Aunque las pruebas de función pulmonar que se exploraron fueron varias (ver métodos), solamente la CVF resultó con el grado de reproducibilidad suficiente para que un cambio secundario a la prueba de reto se interpretara como tal y no como producto de la variabilidad intrínseca al método, aunque todas las pruebas, de de función pulmonar fueron realizadas siempre por la misma persona. También se exploró la reproducibilidad de las pruebas de laboratorio que se consideraron podrían ser decisivas para la interpretación de la prueba de reto. Aunque el coeficiente de variación de la mayoría de ellas fueron aceptables, ninguna superó el que se obtuvo de la CVF.

Después de haber sometido al reto antigénico sólo el grupo de pacientes con AAE mostró cambios significativos en las variables medidas. Con respecto a las pruebas de función respiratoria la CVF, la CPT, la PaO<sub>2</sub> y la saturación de oxígeno resultaron ser estadísticamente significativas post-reto. Llama la atención que la Dlco no mostrara ningún cambio. Esto posiblemente se debe a que esta medición al igual que la pletismografía solo se llevó a cabo 24 horas post-reto, tiempo en el cual la mayoría de los pacientes se habían recuperado y se encontraban en condiciones muy similares previas al reto.

En relación a la CVF, a pesar de que fue estadísticamente muy diferente en los pacientes con AAE comparada con los pacientes con otras fibrosis y los sujetos asintomáticos, el punto de corte más apropiado en las curvas ROC fue para una caída del 16%. Esto le dió a la CVF una sensibilidad del 76% y especificidad del 82%. Esta baja sensibilidad pudo estar determinada por la variabilidad diurna de la

prueba. Si bien antes del reto a todos los pacientes se les hizo dos pruebas espirométricas para determinar la variabilidad y esta no fue mayor del 2%, no conocemos en el transcurso del día como se comporta la CVF en los pacientes intersticiales. Algunos sujetos control tuvieron mas de 250 ml de cambio en la CVF durante las 24 horas siguientes. Sin embargo, no hubo otras manifestaciones de positividad de la prueba que pudieran sugerir que el cambio en la CVF fuera parte de la respuesta a la provocación antigénica. Si en aras de incrementar la sensibilidad de la CVF se hubiera disminuído el punto de corte, las falsas positivas hubieran aumentado, como lo demuestra la figura 4. No obstante el modelo de regresión logística univariado, permite asumir que la caída porcentual de la CVF, resulta muy útil para predecir la enfermedad, aún cuando la sensibilidad sea baja.

Los puntos de corte para la  $PaO_2$  y la saturación de oxígeno resultaron similares entre sí. La sensibilidad y especificidad fue de 82% para ambas, aunque los valores predictivos positivo y negativo tuvieron valores más bajos (77%). Estas mediciones resultan más útiles que la espirometría, y por su mínima invasividad la saturación de oxígeno puede sustituir a la  $PaO_2$ . Aunque el promedio de la caída de la  $PaO_2$  fue de 8 mm Hg hubo dos pacientes que llegaron a presentar más de 10 unidades torr; sin embargo, esta caída se mantuvo por muy poco tiempo, y los pacientes se recuperaron en forma muy rápida, antes de 24 horas.

De las variables clínicas que se midieron, la temperatura resultó ser el parámetro más útil ya que su sensibilidad y especificidad alcanzaron el 100 y 81% respectivamente. Esta variable que también se midió cada hora durante las 24 horas siguientes al reto antigénico, mostró cambios más significativa al compararla con la CVF. A las 4 horas ya había una diferencia importante entre los grupos control y los sujetos con AAE, y aunque también se notó un incremento de la temperatura en los pacientes con otras fibrosis, este aumento estuvo determinado por 3 sujetos que presentaron una prueba falsa positiva. Las diferencias entre los pacientes con AAE

y el grupo control (FPDE y SA) fue más significativa con la temperatura que con la CVF. Nuestros resultados, sugieren que la temperatura supera a las variables funcionales en la definición de una prueba positiva, y esto coincide con los reportes iniciales de Harwreave(20) y los siguientes trabajos publicados por diferentes autores (18-19).

Nosotros evaluamos a los pacientes durante 24 horas post-reto ya que reportes previos (19) mencionan manifestaciones de una prueba positiva 24 horas posteriores a éste. Sin embargo, nosotros no observamos que algún paciente iniciara con manifestaciones de una prueba positiva más allá de las 10 horas. Nuestros resultados sugieren que la repuesta al reto se inicia a las 4 horas y sus manifestaciones máximas son entre 8 y 10 horas y a partir de este tiempo los cambios clínicos y funcionales empiezan a declinar. Estos resultados sugieren que un paciente sometido a prueba de reto debe ser observado durante las 10 primeras horas, tiempo en el cual se debe esperar una reacción, si en este tiempo no hay respuesta, no hay necesidad de continuar observándolo.

Ni la radiografía de torax, ni la VSG, ni cuenta total de leucocitos o sus subpoblaciones, ni las inmunoglobulinas, mostraron ser útiles como indicadores de una prueba positiva. Una explicación posible puede ser el hecho de que la medición de estas variables post-reto se hizo al día siguiente. Es probable, si la respuesta inmunológica fuera aguda, que 24 horas fuera un tiempo demasiado largo para detectar cambios. Esto puede ser particularmente cierto para la radiografía de torax, la VSG, y los leucocitos. En cambio, podría ser que 24 horas fuera un tiempo demasiado corto para observar cambios en las inmunoglobulinas. Además los cambios más importantes podrían ser locales y reflejarse en el lavado bronquioloalveolar (el cual no se consideró para este estudio). Por otra parte, una explicación adicional para la ausencia de cambios en la placa de tórax, es que éstos

hayán sido tan sutiles, que las lesiones tan avanzados que la mayoría de los pacientes ya tenía en la radiografía, no hayan permitido apreciar las diferencias.

Es conveniente hacer algunas consideraciones acerca de las características de los pacientes con FPDE que presentaron una prueba falsa positiva. Con respecto a la presencia de los AcAv para integrar el diagnóstico de AAE, dos de los tres pacientes que tuvieron una prueba falsa positiva mostraron densidades ópticas en el ELISA de 0.16 y 0.20 en la detección de anticuerpos con el antígeno aviario. Aunque el punto de corte para considerar un resultado positivo es de 0.22, el promedio de los sujetos con fibrosis fue veinte veces más bajo que este valor. Además estos pacientes tuvieron francas alteraciones clínicas y de laboratorio, con caídas de la CVF de más de 20%, aumento de la temperatura de más de 2.5°C, y disminución de la PaO<sub>2</sub> hasta de 8°C, es decir hicieron una franca reacción. Es probable que estos dos sujetos en realidad formen parte del grupo de pacientes con AAE crónica con histología de fibrosis inespecífica, y los resultados de los AcAv sean parte del espectro de los falsos negativos del ELISA utilizado para determinar la presencia de AcAV. Esto es más probable para el sujeto cuyos resultados de los AcAv se encontró en el límite extremo. De ser así, la especificidad para la temperatura con ese mismo punto de corte se elevaría de 81% a 94% y los valores predictivo negativo aumentaría de 86% a 96%, lo mismo ocurriría para la CVF, PaO<sub>2</sub> y saturación de oxígeno.

El análisis de regresión logística es un método adicional que se utilizó para investigar si alguna de las variables en forma individual o combinadas eran capaces de predecir el diagnóstico de AAE. Debido a la solidez que este tipo de análisis estadístico ofrece, los resultados obtenidos con él, confirma la utilidad de el aumento de la temperatura de 0.5°C y la caída de la CVF% como variables predictoras.

## **VENTAJAS Y UTILIDADES DE UNA PRUEBA DIAGNOSTICA NO INVASIVA PARA EL DIAGNÓSTICO DE AAE.**

### **Diagnóstico diferencial**

Como se consignó en los resultados, 3 sujetos fueron eliminados después de la prueba de reto, por presentar en el reporte histológico FPI con AcAv positivos, lo que a nuestro juicio provocaba un diagnóstico impreciso y era motivo de exclusión. Sin embargo, los tres sujetos tuvieron aumento de la temperatura de más de 2°C, y caída de la CVF, PaO<sub>2</sub> y saturación de oxígeno, además de manifestaciones sistémicas; es decir, *a posteriori* se puede concluir que la prueba fue positiva y por lo tanto, los pacientes tenían en realidad AAE. En el trabajo de Pérez-Padilla y cols (7) el diagnóstico de AAE y el de FPI no pudo determinarse en el 24% de la población estudiada, a pesar de contar con biopsia. El problema de ese estudio, al igual que en el nuestro es de diagnóstico diferencial. Muy probablemente los pacientes estudiados por Perez-Padilla y cols hubieran respondido a una prueba de reto y entonces hubieran podido ser diagnosticados como AAE sin temor a equivocarse. En el contexto del diagnóstico diferencial entre FPI o cualquier otra enfermedad intersticial, en la que los pacientes refieran convivencia con aves y que incluso tengan AcAv positivos, un incremento de la temperatura mayor de 0.5°C y una caída de la CVF del 16% ó más después del reto con antígeno aviario tiene una sensibilidad y especificidad de 100% para hacer el diagnóstico de AAE. Esta prueba provee, razonablemente de un diagnóstico de certeza. Por lo tanto el pronóstico puede al mismo tiempo determinarse. En el trabajo de Pérez-Padilla y cols (7) se puede observar que el pronóstico de los pacientes con AAE y FPI es diferente, a menos que desde el punto de vista de la severidad de la fibrosis sean similares.



### **Diagnóstico Preciso**

En nuestra población un número importante de pacientes buscan atención especializada cuando la enfermedad se encuentra en fases avanzadas. Por lo tanto el riesgo quirúrgico suele ser muy elevado y los pacientes ya no son candidatos para ser sometidos a biopsia. Nosotros no pudimos realizar la prueba de reto a 35 sujetos con neumopatía intersticial ya que no fueron sometidos a biopsia pulmonar por el riesgo quirúrgico alto, siendo éste un criterio de exclusión en nuestro trabajo. Todos estos sujetos se egresaron con un diagnóstico presuntivo. La utilidad de la prueba de reto con antígeno aviario depende de su capacidad de hacer el diagnóstico de certeza en pacientes a quienes, de otra forma, se les haría un diagnóstico presuntivo o erróneo de AAE como ocurrió en los sujetos arriba mencionados. Por otro lado, si se comparan los riesgos y/o complicaciones secundarias a la prueba de reto, a los observados en un procedimiento quirúrgico para obtener una biopsia, existe una clara ventaja de la prueba de reto. Ninguno de los pacientes a quienes se les sometió a la prueba de provocación presentó complicaciones secundarias en términos de morbilidad, y/o mortalidad. Además, la recuperación de estos pacientes fue rápida, comparado con el procedimiento quirúrgico en que tardan en recuperarse más de 10 días.

### **Pronóstico**

Una vez que el diagnóstico de certeza se ha establecido es posible establecer el pronóstico. Los pacientes con diagnóstico de AAE tienen mejor pronóstico que los pacientes con otras causas de fibrosis, como la idiopática por ejemplo. Esto es cierto a menos que el grado de fibrosis sea similar (7). Puesto que el pronóstico depende del grado de fibrosis y para esto, con el espécimen histológico es posible establecerlo, la información derivada de la prueba de reto en este sentido, estaría

incompleta. Una alternativa para ello puede ser la tomografía computada de tórax. Recientes evidencias sugieren que la tomografía de alta resolución puede ser una buena alternativa para establecer el pronóstico en pacientes con fibrosis pulmonar. Esta junto con la prueba de reto podrían complementarse para, por un lado llegar al diagnóstico y por otro establecer un pronóstico.

### **Propósitos de investigación.**

Los resultados de este trabajo mostraron que la prueba de provocación con antígeno aviario reproduce los síntomas de un cuadro agudo de AAE. Aunque el cuadro clínico y funcional que se caracteriza por fiebre, taquicardia, taquipnea y una caída de la CVF y la PaO<sub>2</sub>, pudieron registrarse, los fenómenos inflamatorios subyacentes a ellos no se conocen. En este sentido, la prueba de reto puede ser utilizada al mismo tiempo que para fines diagnósticos y pronósticos, también como un modelo experimental humano de una enfermedad inflamatoria. Con respecto a los mecanismos patogénicos que hace que un grupo de pacientes con AAE evolucione a fibrosis pulmonar y otros no, se desconocen esencialmente los factores profibrosantes que deben condicionar el destino de los pacientes. La reproducción del cuadro clínico y funcional de la AAE, debe seguramente ser precedido de los mecanismos inflamatorios e inmunológicos responsables. Bajo estas perspectivas, los pacientes expuestos a la prueba de reto podrían adicionalmente ser estudiados, tanto sistémicamente a través de muestras de sangre seriadas como localmente a través del lavado bronquioloalveolar. En este sentido, resultan particularmente útiles tanto los pacientes con diagnóstico de fibrosis pulmonar de etiologías diferentes a la AAE, como los familiares asintomáticos, que aún cuando se registraron AcAv positivos, la prueba de reto fue negativa, puesto que los fenómenos inmunológicos e

**inflamatorios supuestamente responsables del cuadro clínico, no deben verse en ellos como controles.**

**En resumen, los resultados de este trabajo muestran que el uso de las pruebas de provocación con antígeno aviario puede identificar a los pacientes con AAE. En el contexto del diagnóstico diferencial, un incremento de la temperatura de más de 0.5oC, acompañado de manifestaciones sistémicas es suficiente para indicar que una prueba es positiva.**

**Los cambios de la función pulmonar, particularmente de la CVF, la saturación de oxígeno y la PaO<sub>2</sub>, resultan adicionalmente útiles indicadores de la presencia de la enfermedad, aunque con sensibilidades menores a las observadas para la temperatura corporal. Aunque el uso de las pruebas de provocación podrían utilizarse con fines de investigación, nuestros resultados sugieren que su uso principal podría tener un carácter diagnóstico, y en este sentido podrían utilizarse sus resultados con razonable confianza.**

**TABLA 1**

**COEFICIENTE DE CORRELACION INTRACLASE Y COEFICIENTE DE VARIACION DE LAS PRUEBAS DE FUNCION RESPIRATORIA EN 42 PACIENTES**

VARIABLE	RI	CV
CPT	.92	5%
VR	.75	12%
CFR	.78	5%
VEFI	.98	3%
CVF	.99	2%

Definición de abreviaciones: RI=Coeficiente de correlación intraclase; CV=Coeficiente de variación; CPT=Capacidad pulmonar total; VR=Volumen Residual; CFR=Capacidad Funcional Residual; VEFI=Volumen espiratorio forzado en el primer segundo; CVF=Capacidad Vital Forzada

**TABLA 2**  
**CARACTERISTICAS GENERALES**

<b>GRUPO</b>	<b>AAE*</b>	<b>FPDE**</b>	<b>SA***</b>
<b>SEXO</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Frecuencia</b>
Masculino	2 (12%)	10 (60%)	2 (40%)
Femenino	15 (88%)	7(40%)	3 (60%)
<b>Edad</b>	<b>X SD</b>	<b>X SD</b>	<b>X SD</b>
	42 ±12	54 ±10	32± 12
<b>Tiempo de exposición a las aves (meses)</b>	<b>Mediana Extremos</b>	<b>Mediana Extremos</b>	<b>Mediana Extremos</b>
	18 (3 -240)	8 (0 -300)	45 (24 -72)
<b>Número de aves</b>	<b>Mediana Extremos</b>	<b>Mediana Extremos</b>	<b>Mediana Extremos</b>
	7 (1-1000)	3 (0 -48)	26 (2-40)
<b>Tiempo de evol. de la enfermedad (meses)</b>	<b>Mediana Extremos</b>	<b>Mediana Extremos</b>	---
	14 (1-60)	39 (4-72)	
<b>Tipo de exposición</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Frecuencia</b>
• Ninguna	0	3 (17%)	0
• Leve	2 (12%)	7 (39%)	1(20)
• Moderada	8 (47%)	4 (22%)	2 (40%)
• Severa	7 (41%)	4 (22%)	2 (40%)
<b>Tipo de ave</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Frecuencia</b>
• Ninguna	0	4 (22.22%)	0
• Palomas	6 (35%)	4 (22.22%)	1 (10%)
• Pericos	3 (18%)	2 (11.11%)	0
• Canarios	2 (12%)	1 ( 5.56%)	0
• Gallinas	0	1 ( 5.56%)	0
• Varios	5(29%)	6 (33.33%)	5 (90%)
• Otros:almohada de plumas	1 (6%)		
<b>AcAv</b>	<b>X ±DE</b>	<b>X ±DE</b>	<b>X ±DE</b>
<b>D.O</b>	1.12±0.70	0.061±0.050	1.078±.097

\*Alveolitis Alérgica Extrínseca \*\*Fibrosis Pulmonar de etiología diferente a la AAE \*\*\*Asintomáticos.

**TABLA 3**  
**PRUEBAS BASALES DE FUNCION RESPIRATORIA POR**  
**DIAGNOSTICO**

GRUPO n	AAE 17		FPDE 17		SA 5		
	X ± DE		X ± DE		X ± DE		
CPT % Predicho	64	12	64	16	110	14	*<0.001
CVF % Predicho	66	13	69	12	97	11	*<0.001
VEF1 % Predicho	62	12	65	10	97	16	*<0.001
VEF1/CVF % Predicho	84	5	80	8	83	7	*NS
DLco % Predicho	43	12	59	9	113	13	*<0.001
PaO <sub>2</sub> Torr	54	8	51	4	-	-	**NS
PaCO <sub>2</sub> Torr	33	5	35	4	-	-	**NS
O <sub>2</sub> Saturación	89	5	87	5	96	2	*<0.003

Significado de las abreviaturas:

CPT=Capacidad Pulmonar Total; CVF=Capacidad Vital Forzada; VEF1=Volumen espiratorio forzado en el primer segundo; VEF1/CVF=Relación volumen espiratorio forzado en el primer segundo, capacidad vital forzada; DLco=Difusión de monóxido de carbono; PaO<sub>2</sub>=Presión arterial de oxígeno;

PaCO<sub>2</sub>=Presión arterial de bioxido de carbono; O<sub>2</sub> Saturación=Saturación de oxígeno

\*Valor obtenido por ANOVA de una vía

\*\*Valor obtenido por prueba de t de student muestras independientes.

TABLE 4

CHANGES POST-RETRO IN VARIABLES OF LABORATORY AND CLINICALS

	AAE			FPDE			SA		
	Pre-retro	Post-retro	Delta	Pre-retro	Post-retro	Delta	Pre-retro	Post-retro	Delta
Leucocitos	X±DE	X±DE	Delta	X±DE	X±DE	Delta	X±DE	X±DE	Delta
Neutrófilos%	6808±2206	9006±3450	-2198	8376±2246	8747±2337	-371	6140±1780	6880±1768	-740
	63±7	68±12	-5	64±12	62±14	2	67±16	62±14	5.4
Linfocitos%	33±7	28±11	5	33±11	34±14	1	30±15	34±13	-4
VSG mm/seg	20±12	20±10	0	18±12	22±15	-4	17±14	13±13	4
IgA u.l	402±97	562±609	-160	429±186	415±186	13	210±156	226±82	-16
IgM u.l.	243±163	212±133	31	151±60	146±67	5	166±99	180±100	-14
IgE u.l.	221±374	165±318	56	66±37	161±271	-95	47±53	46±51	1
AcAv D.O	1.12±070	1.077±0.69	-0.57	0.061±0.056	0.066±0.057	-0.005	1.078	1.073±1.074	0.05
*Temperatura oC	36.01±0.05	38.38±0.7	-2.35	36.12±0.06	36.6±0.83	-0.53	36.07±0.08	36.33±0.19	-0.05

\*p<0.001 ANOVA de una vía

AAE- Alveolitis alérgica extrínseca

FPDE= Fibrosis Pulmonar de diferente etiología a la AAE.

AAE= Sujetos asintomáticos

**TABLA 5**  
**CAMBIOS POST-RETO EN LA FUNCION PULMONAR**

Grupo	AAE			FPDE			SA		
	Pre.reto X±DE	Post.reto X±DE	Delta	Pre.reto X±DE	Post.reto X±DE	Delta	Pre.reto X±DE	Post.reto X±DE	Delta
*CVF ml	1817±436	1456±411	361	2148±556	2014±595	134	3563±924	3398±910	165
*CPT ml	2894±733	2591±629	303	3417±823	3405±839	12	5662±1307	5550±125	112
***DLcoml/min/mmHg	10.78±2.78	9.76±1.49	1.01	12.63±4.39	12.0±3.76	0.63	29.05±4.18	28.76±4.21	0.29
**PaO <sub>2</sub> Torr	54±9	46±8	8	51±5	49±6	2			
***PaCO <sub>2</sub> Torr	33±5	31±3	2	3±4	34±5	1			
*Saturación de Oxígeno %	89±5	84±7	5	87±6	86±6	1	96±1	96±1	0

\*p<0.001 ANOVA de una vía

\*\*p<0.001 t de student muestras independientes

\*\*\*p=NS



**TABLA 6**  
**SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VALORES PREDICTIVOS NEGATIVO Y POSITIVO DE**  
**LAS VARIABLES QUE RESULTARON TENER EL MEJOR PUNTO DE CORTE CON LAS**  
**CURVAS ROC**

	CVF >16%	Temperatura >0.5(°C)	PaO <sub>2</sub> >3 Torr	Sat O <sub>2</sub> >3%	CPT >8%
Sensibilidad	76%	100%	82%	82%	47%
Especificidad	86%	81%	82%	86%	82%
Valor Predictivo +	81%	100%	81%	82%	66%
Valor Predictivo -	83%	86%	77%	86%	66%
Falsas Positivas	14%	19%	17%	14%	18%

**MODELO DE REGRESION LOGISTICA PARA PREDECIR AAE  
DE ACUERDO A LAS VARIABLES QUE TUVIERON UN CAMBIO  
DESPUES DEL RETO**

**Modelo 1**

Riesgos relativos para el aumento de 1°C de la temperatura en un modelo de  
regresión logística univariado.

*Temperatura °C	82.5(10.43-651.775)
-----------------	---------------------

**Modelo 2**

Riesgos relativos para la caída de la CVF% en un modelo de regresion logistica  
univariado.

CVF%	1.21(1.069-1.369)
------	-------------------

**Modelo 3**

Riesgos relativos para CVF y temperatura en un modelo de regresion logistica  
multivariado.

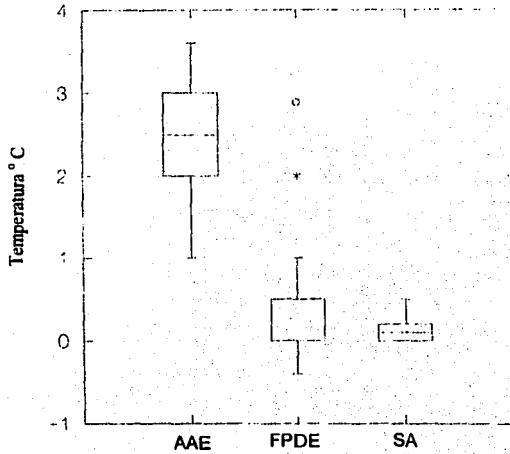
CVF%	1.118(0.99-1.259)
Temperatura °C	31.998(3.41-300.043)

\*Aumeto de la temperatura mayor a 1oC

Como puede observarse las variables temperatura y CVF en forma independiente (modelo 1 y 2 respectivamente) son mejores predictoras que analizadas en forma conjunta (modelo 3). La temperatura en el modelo multivariado (modelo 3), continua siendo una variable predictora aunque tiene menor riesgo que si se analiza en forma independiente.

# GRAFICA 1

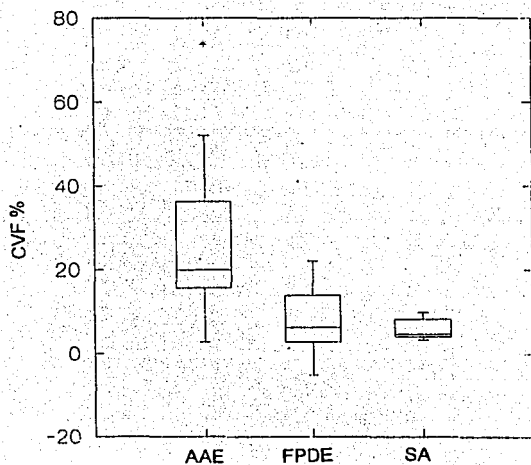
## AUMENTO DE LA TEMPERATURA POST-RETO EN LOS TRES GRUPOS ESTUDIADOS



AAE=Alveolitis Alérgica Extrínseca  
FPDE=Fibrosis Pulmonar de diferente etiología a la AAE  
SA=Sujetos Asintomáticos

GRAFICA 2

CAIDA DE LA CVF EN PORCENTAJE. POST-RETO EN LOS TRES GRUPOS ESTUDIADOS



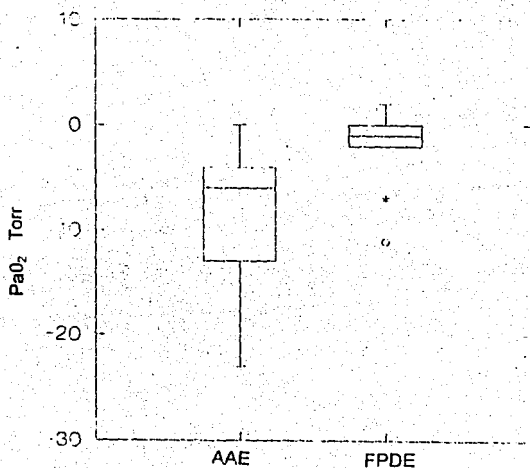
AAE=Alveolitis Alérgica Extrínseca

FPDE=Fibrosis Pulmonar de diferente etiología a la AAE

SA=Sujetos Asintomáticos

GRAFICA 3

CAIDA DE LA PAO<sub>2</sub> POST-RETO EN LOS TRES GRUPOS ESTUDIADOS



AAE=Alveolitis Alérgica Extrínseca

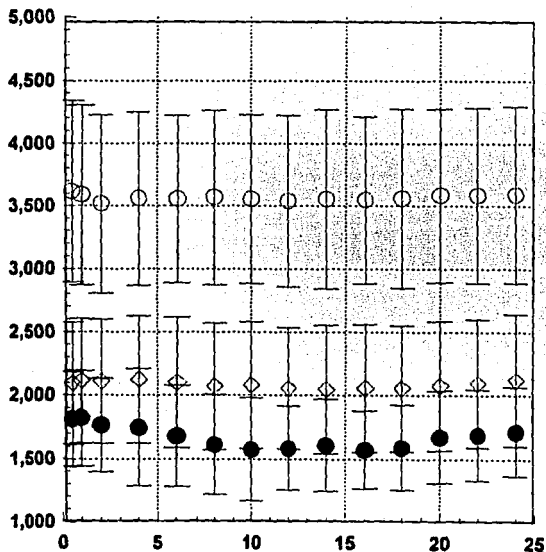
FPDE=Fibrosis Pulmonar de diferente etiología a la AAE

SA=Sujtos Asintomáticos

# CAMBIOS EN LA CVF POST-RETO

## FIGURA 1

CVF en L



Tiempo en Horas

AAE ●

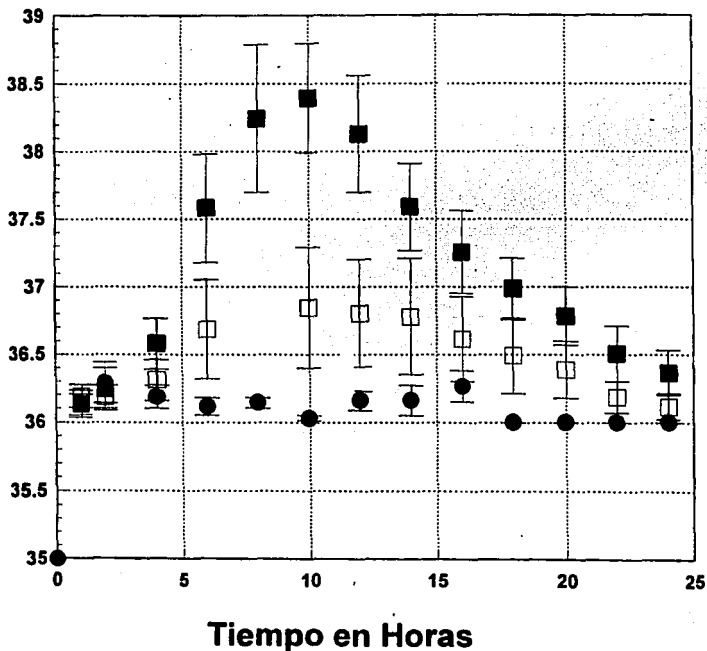
Otras fibrosis ◇

Asintomáticos ○

# CAMBIOS EN LA TEMPERATURA POST-RETO

Temp

FIGURA 2



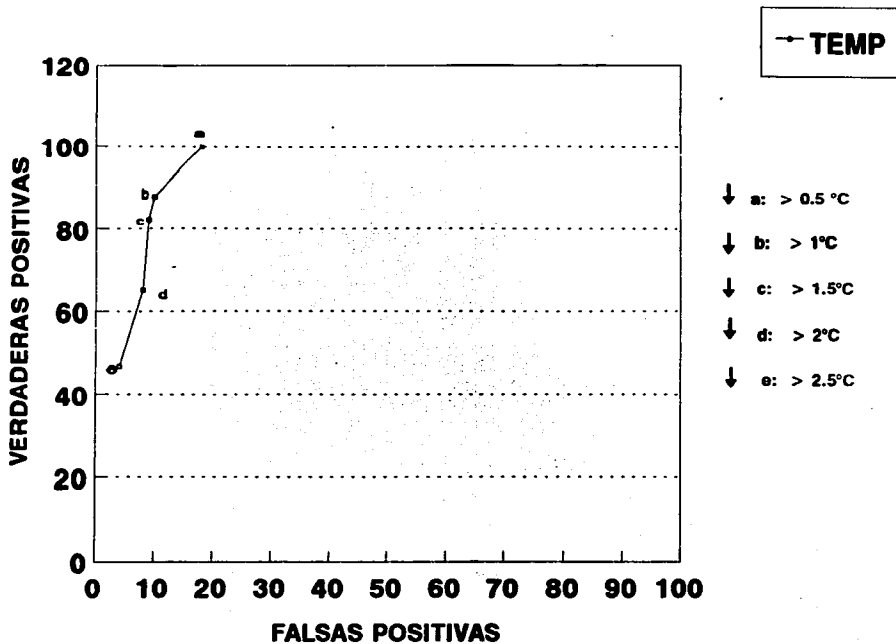
AAE ■

Otras fibrosis □

Asintomáticos ●

# CURVAS ROC PARA LA TEMPERATURA

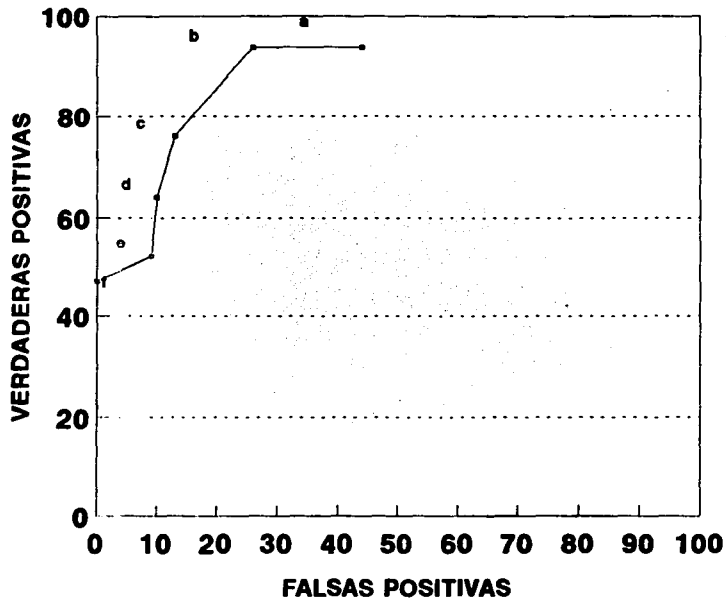
## FIGURA 3





# CURVAS ROC PARA LA CAPACIDAD VITAL FORZADA (CVF)

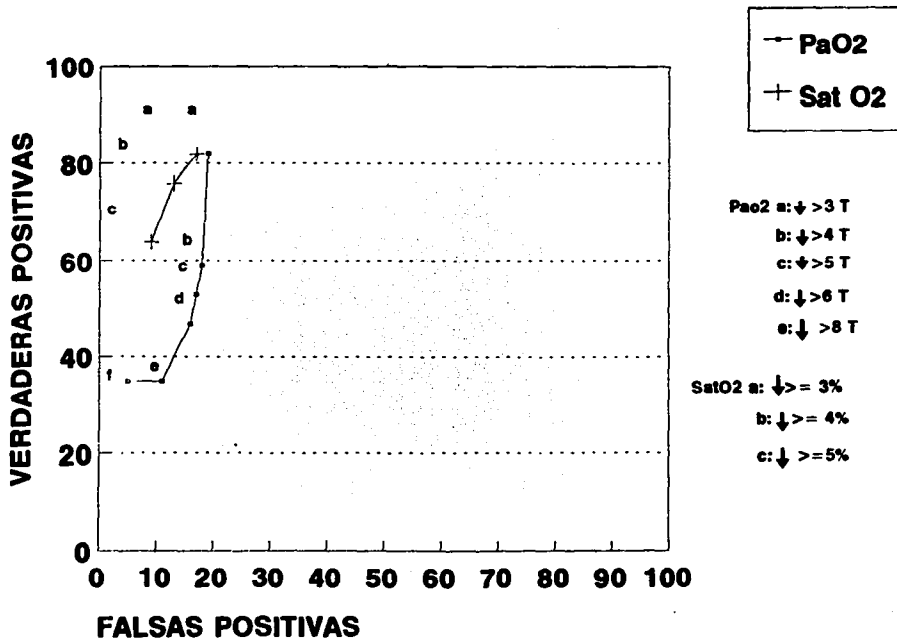
## FIGURA 4



- a:  $\downarrow \geq 5\%$
- b:  $\downarrow \geq 10\%$
- c:  $\downarrow \geq 16\%$
- d:  $\downarrow \geq 18\%$
- e:  $\downarrow \geq 20\%$
- f:  $\downarrow \geq 24\%$

# CURVAS ROC PARA SATURACION Y PaO2

## FIGURA 5



## **REFERENCIAS**

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

1. HY Reynolds. Hypersensitivity pneumonitis. Clin Chest Med 1982; 3:503-19.
2. Campbell JM. Acute symptoms following work with hay. Br Med J 1932;2:1143-66.
3. Gruchow HW, Hoffman RG, Marx JJ, Emanuel DA, Rimm AA. Precipitating antibodies to farmer's lung antigens in a Wisconsin farming population. Am Rev Respir Dis 1981; 124:411-5.
4. Kreiss K, Hodgson MJ. Building-associated epidemics. In Walsh PJ, DudneyCS, CopeAAEaver ED (eds): Indoor air quality. Boca Raton, FL:CRC Press,1984; 87-108
5. Selman M., Chapela R., Salas J., Sansores R y cols. Hypersensitivity Pneumonitis:Clinical approach and an integral concept about its pathogenesis. A mexican point of view.In: Selman M, Barrios R, eds. Interstitial pulmonary diseases. Selected topics. Boca Raton FL:CRC. Press, 1990; 171-96.
6. Sansores RH, Salas J, Barquin N, Chapela R,Selman M. Clubbing in hypersensitivity pneumonitis. Arch Intern Med 1990;150:1849-56.
7. Perez-Padilla R. Salas J, Chapela R,Sánchez M, Carrillo G y cols.Mortality Mexican Patients with Chronic Pigeon Breeder's Lung Compared with those with usual Interstitial Pneumonia. Am Rev Respir Dis 1993;148:49-53.
8. Datos no publicados de la Dra. Rocio Chapela.
9. Rose C, King TE Jr. Controversies in hypersensitivity pneumonitis (Edit). Am Rev Respir Dis 1992;145:1-2
- 10.Salas J., Pérez-Padilla J., Chapela R., Sánchez M., Carrillo G., Pérez- Chavira R, Sansores R., Selman S. High mortality in mexican patients with chronic pigeon breeder's disease. Am Rev Respir Dis 1991;143:A58.

11. Turner Warwick M., Burrows B., Johnson A. Cryptogenic fibrosing alveolitis: response to corticosteroid treatment and its effect on survival. *Thorax* 1980;35: 593-9.
12. Curry JJ. The action of the histamine on the respiratory tract in normal and asthmatic subjects. *J Clin Invest* 1945;25:785.
13. Lowell FC, Schiller IW. Measurement of changes in vital capacity as a means of detecting pulmonary reactions to inhaled aerosol allergic extracts in asthmatic subjects *J Allergy* 1948;19:100.
14. Pepys J. and Hutchcroft BJ. Bronchial Provocation Tests in Etiologic Diagnosis and Analysis of Asthma. "State of the Art". *Am Rev Respir Dis* 1975;112:829-60.
15. Pepys J. New tests to assess lung function. Inhalation challenge tests in asthma. *New Engl. J Med* 1975;293:758
16. Guidelines for bronchial inhalation challenges with pharmacologic and antigenic agents. Spring 1980, *ATS news*:11-9.
17. Williams JV. Inhalation and skin tests with extracts of hay and fungi in patients with farmer's lung. *Thorax* 1963;18:182-96.
18. Hendrick DJ., Marshall R., Faux JA., Krall JM. Positive responses to antigen provocation tests: their validity and recognition. *Thorax* 1980;35:415-27.
19. Hargreave FE., Pepys J. Allergic respiratory reactions in bird fanciers provoked by allergen inhalation provocation tests. Relation to clinical features and allergic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 1972;50:157-73.
20. Hargreave FE., Pepys J., Longbottom JL., Wraith DG. Bird breeder's (fancier's) lung. *Lancet* 1966;1:447-9.
21. Reed CE, Sosman A. Barbee RA. Pigeon breeder's lung *JAMA* 1965;193:261-5.
22. Haitjema, TJ, Velzen-Blad HV, Van den Bosch JMM. Extrinsic allergic alveolitis caused by goose feathers in a duvet. *Thorax* 1992;47:990-1.

23. Department of clinical epidemiology and biostatistics. Mc Master University Health Sciences Centre. How to read clinical journals. II. To learn about a diagnostic test. *CMA Journal* 1981;124:703-10
24. Bañales JL, Vázquez L, Mendoza F, Baltazares M, Nava A, Selman M. Distribution of values for serie antibodies against pigeon serum antigen in a group of healthy blood donors. *Arch Med Res (Mex)*. En prensa.
25. Arnett FC, Edworthy S, Block DA, y cols. The 1987 revised ARA criteria for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 30:S17,1987.
26. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, y cols. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus (SLE). *Arthritis Rheum* 1982;25:1271-7.
27. Masi AT, Rodnan GP, Medsger TA Jr, et al: Preliminary criteria for the clasification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980;23:581-90.
28. Alvine GF, Rodgers P, Fitzdimmond KM, Ahrens RC. Disposable Jet Nebulizers, How Reliable Are They? *Chest* 1992;101:316-9.
29. American thoracic society. Standardization of spirometry-1987 Update. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:1285-98.
30. Ramírez-Venegas A, Sansores R, Carrillo G, Salas J, Chapela R, Selman M. Validación de una escala análoga visual para la evaluación de disnea en pacientes con enfermedad intersticial pulmonar difusa. *Rev Invest Clin* 1994;46:479-86.
31. Ransohoff D, Feinstein A. Problems of spectrum and bias in evaluating of diagnostic tests. *N Engl J Med* 1978;299:926-9