

# Evaluación del desempeño de laboratorios de referencia nacionales de la región de las Américas para el diagnóstico de enfermedades infecciosas emergentes 2002-2006

Alberto Gianella, Yelin Roca, Roxana Loayza, Naomi Iihoshi

## RESUMEN

Con el fin de evaluar la capacidad de los laboratorios nacionales de referencia para enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes (EIE) de la Región de las Américas, a solicitud de la OPS se organizó un programa de evaluación del desempeño del diagnóstico de esas enfermedades. El Centro Nacional de Enfermedades Tropicales (CENETROP) de Bolivia funcionó como centro organizador del programa y estuvo a cargo de enviar un panel de muestras codificadas de sueros obtenidos de pacientes con diversos diagnósticos. Los laboratorios participantes tenían que analizar las muestras y comunicar los resultados de las pruebas realizadas y el diagnóstico clínico de cada caso al centro organizador.

Entre 2002 y 2006 se realizaron seis evaluaciones. Los resultados obtenidos por los laboratorios participantes mostraron concordancia con el centro organizador en 100% de los casos de rubéola; 96,5% en los de sarampión; 93% en malaria; 87,5% para leptospirosis y hepatitis A, y 82,3% en los casos de dengue. La concordancia fue menor para los casos de sífilis (77,8%), hantavirus (70%), hepatitis C (64,7%), hepatitis B (62,5%) y fiebre amarilla (56,5%). Para otras enfermedades como fiebre tifoidea, fiebre Mayaro, influenza y fiebre Q la concordancia fue aún menor, alrededor de 35%. En varios casos los laboratorios informaron que no contaban con los reactivos necesarios para el diagnóstico de algunas de las enfermedades incluidas en el panel de sueros. El tiempo que demoraron los laboratorios en enviar sus resultados fue prolongando a partir de la segunda evaluación.

El programa de evaluación del desempeño ha puesto en evidencia las fortalezas del diagnóstico de varias EIE y ha detectado como una importante debilidad de los laboratorios de la Región la carencia de reactivos para el diagnóstico de otras enfermedades infecciosas emergentes.

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, las enfermedades infecciosas emergentes y re-emergentes han sido causa de preocupación creciente debido al riesgo para la salud de millones de personas. En décadas recientes han surgido en América del Sur nuevos agentes patógenos, como el hantavirus<sup>1-11</sup>, y han reaparecido enfermedades que se pensaba que estaban controladas, tales como el dengue y la fiebre amarilla<sup>12-15</sup>, entre otras.

La clave para reconocer y controlar las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes en el mundo globalizado es la organización de programas de vigilancia bien diseñados<sup>16</sup> y apoyados por técnicas de laboratorio que permitan la detección de casos tempranamente, que informen a los sistemas de alerta nacionales e internacionales para que inicien programas de control adecuados. El Instituto de Medicina de los Estados Unidos de América ha destacado, entre otras medidas, la necesidad de contar con una red de laboratorios continental, cuyos miembros puedan funcionar como puestos de alerta, realizando el diagnóstico oportuno y preciso de las amenazas microbianas para la salud<sup>17</sup>. Con esa finalidad, en junio de 1995 la Organización Panamericana de la Salud (OPS) convocó una reunión de expertos para analizar posibles estrategias de prevención y el control de las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes. El producto final fue un Plan Regional de Acción<sup>18</sup> que tenía como propósito elaborar una estrategia continental para hacer frente al riesgo de brotes epidémicos de EIE que pudieran afectar la salud de millones de personas. El Plan estableció cuatro metas: 1) fortalecimiento de las redes regionales de vigilancia de las enfermedades infecciosas en las Américas; 2) la creación de la infraestructura nacional y regional necesarias para poner en práctica sistemas de alerta temprana y de respuesta rápida a las amenazas planteadas por las enfermedades infecciosas, mediante el mejoramiento de los laboratorios y programas de capacitación multidisciplinarios; 3) el impulso a la investigación aplicada en los campos de diagnóstico rápido, epidemiología y prevención; y 4) el fortalecimiento de la capacidad regional para aplicar eficazmente estrategias de prevención y control. En una reunión realizada en Buenos Aires en 1998, en la que participaron representantes de la OPS, los

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos y responsables de los laboratorios de referencia de los países de las subregiones Amazónica y del Cono, se dio inicio al Plan con el establecimiento de las bases para la organización y desarrollo de una red de laboratorios de vigilancia de las EIE<sup>19</sup>. Pocos meses después, con la participación de las mismas autoridades en una reunión realizada en Manaus, Brasil, se elaboró una estrategia para fortalecer los laboratorios nacionales de la Región, con el fin de que adquirieran la capacidad técnica para realizar el diagnóstico oportuno y confiable de las enfermedades emergentes. También se establecieron las bases de una red de vigilancia en la región Amazónica con capacidad de realizar pruebas diagnósticas confiables y de alta calidad para mejorar la posibilidad de poner en práctica medidas rápidas de control<sup>20</sup>.

Dado que en la Región actualmente existen laboratorios de referencia nacionales que cumplen funciones de vigilancia de las EIE, la OPS consideró oportuno evaluar la capacidad de diagnóstico y tiempo de respuesta de estos laboratorios en casos de un brote potencial de enfermedad infecciosa, para lo cual en 2001 solicitó la colaboración del CENETROP para organizar y poner en marcha un sistema de evaluación externa del desempeño en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas emergentes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para ejecutar el programa de evaluación del desempeño, CENETROP preparó un panel de sueros constituido por muestras obtenidas de pacientes con diagnóstico de alguna enfermedad infecciosa emergente en CENETROP y confirmadas por los CDC de los Estados Unidos.

Para iniciar la evaluación del desempeño, se invitó a participar a los laboratorios de referencia, explicándoseles el objetivo y la metodología del programa propuesto. Una vez recibida la aceptación de los laboratorios participantes, se procedió al envío del panel de evaluación y una historia clínica acompañando cada muestra. Los sueros seleccionados se enviaron en caja de cartón refrigerada y embalada siguiendo la normas internacionales para el envío de muestras serológicas de enfermedades infecciosas. Cada una de las muestras serológicas de 0,5 mL fue inactivada y conservada con Bronidox-L al 0,05%<sup>21</sup>, colocada en viales de seguridad con el código de identificación correspondiente y enviada por correo.

Cada muestra serológica iba acompañada de un resumen de la historia clínica del paciente respectivo e identificada con un código para que el laboratorio participante lo utilizara como referencia al enviar al centro organizador el resultado de su impresión clínica y de las pruebas de laboratorio realizadas. A su vez, los laboratorios participantes tenían que enviar a CENETROP por vía fax o correo electrónico en un plazo de siete días después

de haber recibido el panel. El informe debería incluir, para cada muestra del panel, la presunción clínica y el diagnóstico de laboratorio; sin embargo, no todos los laboratorios enviaron los resultados de las evaluaciones. Al recibir los resultados, el centro organizador envió a cada institución la clave de resultados del multipanel para su autoevaluación y, al final de cada una de las evaluaciones, el centro analizó los resultados de todas las instituciones en un informe compartido con todos los laboratorios participantes. Los resultados de las evaluaciones de desempeño se mantuvieron en el más estricto grado de confidencialidad, de modo que cada institución solo recibió información sobre sus propios resultados.

## RESULTADOS

Durante las evaluaciones, los laboratorios informaron en varios casos que no contaban con reactivos para realizar las pruebas serológicas correspondientes. Así, por ejemplo, en la primera evaluación, el laboratorio 1 no tenía reactivos para fiebre amarilla, dengue y hepatitis A y en la segunda, el laboratorio 12 no tuvo reactivos para fiebre amarilla y los laboratorios 3 y 12 carecían de reactivos para hantavirus.

## DISCUSIÓN

La evaluación del desempeño del diagnóstico de las enfermedades emergentes y reemergentes de los diferentes laboratorios participantes tenía dos objetivos principales: conocer el tiempo de respuesta para diagnosticar esas enfermedades y determinar la exactitud de las pruebas serológicas correspondientes.

En cuanto al tiempo que tomaron los laboratorios participantes para enviar sus resultados serológicos, la respuesta fue rápida y en el plazo fijado solo en la primera evaluación. El tiempo de respuesta más prolongado se observó en la sexta evaluación, en la cual los laboratorios demoraron más de 30 días en enviar sus resultados.

En lo referente a la capacidad de los laboratorios para detectar las EIE, se destacó la exactitud para diagnosticar los casos de dengue. Si se excluyen los resultados de la cuarta evaluación, que contenía sueros con títulos bajos, los resultados de las pruebas de detección del dengue fueron correctos en más de 93% de los casos. Este desempeño era de esperar, debido a que en la Región los brotes de dengue han sido frecuentes en los últimos años, habiendo obligado a perfeccionar el diagnóstico; también se hicieron varios talleres de capacitación sobre el tema en la Región. No obstante, la poca sensibilidad observada para identificar casos de dengue con títulos bajos de anticuerpos sugiere que se deben realizar ajustes en las técnicas diagnósticas.

Se observó una buena capacidad de diagnóstico en los casos de sarampión, rubéola, hepatitis A y leptospirosis. En los dos primeros, esto podría estar relacionado con las actividades de capacitación y evaluación que se han llevado a cabo en el ámbito del Plan Ampliado de Inmunizaciones (PAI) y con la buena infraestructura de laboratorio que lo apoya.

En los casos de hantavirus, fiebre amarilla, sífilis y hepatitis B y C las pruebas de laboratorio tuvieron una exactitud intermedia. Estos resultados son preocupantes en los casos de hantavirus y fiebre amarilla, ya que se han observado brotes frecuentes de ambas enfermedades en los últimos años y por ello se han realizado esfuerzos importantes para mejorar la capacidad diagnóstica de ambas infecciones. En especial, debemos destacar que varios laboratorios informaron que no contaban con reactivos para la identificación de estos dos microorganismos. Asimismo, en los casos de hepatitis B y C se esperaban mejores resultados, ya que existe un buen sistema de diagnóstico de estos agentes infecciosos en los bancos de sangre.

En el resto de las EIE incluidas en los diferentes paneles de evaluación, la identificación tuvo una exactitud de menos de 35%. Los resultados obtenidos en los casos de influenza son preocupantes, ya que los brotes son frecuentes cada año y existe una red de vigilancia en operación. Las otras enfermedades son poco frecuentes y los resultados observados eran de esperarse.

En el caso de la sífilis, se observó que el diagnóstico clínico era excelente (100%), aunque la concordancia fue de 77,8% en las pruebas de laboratorio. No obstante, hay que destacar que tres laboratorios informaron carencia de reactivos para el diagnóstico de esa infección. Por el contrario, para los casos de sarampión y rubéola el diagnóstico de laboratorio fue mejor que el diagnóstico clínico.

Se puede concluir que este programa de evaluación ha puesto en evidencia las fortalezas del diagnóstico de varias enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes, entre las que se destacan el dengue y las enfermedades eruptivas, como sarampión y rubéola. Por otra parte, se detectó como debilidad importante la carencia de reactivos para el diagnóstico de algunas enfermedades, como es el caso de hantavirus y fiebre amarilla. Este dato subraya la necesidad de establecer un mecanismo eficiente de intercambio entre los diferentes centros de la Región, para asegurar que al menos un laboratorio de referencia en cada país cuente con los reactivos necesarios para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes de mayor importancia epidemiológica.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece a todo el personal de la Unidad Funcional de Inmunología y Biología Molecular de CENETROP por su apoyo y colaboración en este trabajo.

## REFERENCIAS

- Rosa ES, Mills JN, Padula PJ, Elkhoury MR, Ksiazek TG, Mendes WS, et al. newly recognized Hantaviruses associated with Hantavirus pulmonary syndrome in northern Brazil: partial genetic characterization of viruses and serologic implication of likely reservoirs. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2005; 5(1):11-9.
- Martinez VP, Colavecchia S, Garcia Alay M, Suzuki B, Trincheri A, Busto S, et al. Hantavirus pulmonary syndrome in Buenos Aires Province. *Medicina (B Aires)* 2001; 61(2):147-56.
- Lazaro ME, Resa AJ, Barclay CM, Calanni L, Samengo L, Martinez L, et al. Hantavirus pulmonary syndrome in southern Argentina. *Medicina (B Aires)* 2000; 60(3):289-301.
- Toro J, Vega JD, Khan AS, Mills JN, Padula P, Terry W, et al. An outbreak of Hantavirus pulmonary syndrome, Chile, 1997. *Emerg Infect Dis* 1998; 4(4):687-94.
- Padula PJ, Edelstein A, Miguel SD, Lopez NM, Rossi CM, Rabinovich RD. Hantavirus pulmonary syndrome outbreak in Argentina: molecular evidence for person-to-person transmission of Andes virus. *Virology* 1998; 241(2):323-30.
- Wells RM, Sosa Estani S, Yadon ZE, Enria D, Padula P, Pini N, et al. An unusual Hantavirus outbreak in southern Argentina: person-to-person transmission? Hantavirus Pulmonary Syndrome Study Group for Patagonia. *Emerg Infect Dis* 1997;3(2):171-4.
- Lopez N, Padula P, Rossi C, Lazaro ME, Franze-Fernandez MT. Genetic identification of a new Hantavirus causing severe pulmonary syndrome in Argentina. *Virology* 1996; 220(1): 223-6.
- Enria D, Padula P, Segura EL, Pini N, Edelstein A, Posse CR, et al. Hantavirus pulmonary syndrome in Argentina. Possibility of person to person transmission. *Medicina (B Aires)* 1996; 56(6):709-11.
- Carroll DS, Mills JN, Montgomery JM, Bausch DG, Blair PJ, Burans JP, et al. Hantavirus pulmonary syndrome in Central Bolivia: relationships between reservoir hosts, habitats, and viral genotypes. *Am J Trop Med Hyg* 2005; 72(1):42-6.
- Padula P, Della Valle MG, Alai MG, Cortada P, Villagra M, Gianella A. Andes virus and first case report of Bermejo virus causing fatal pulmonary syndrome. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(4):437-9.

11. Gianella A, Pirard M, Holzman A, Boelaert M, Fernandez-Ortiz F, Peredo C, et al. Epidemic outbreak of dengue virus 2/Jamaica genotype in Bolivia. *Salud Publica Mex* 1998; 40(6):469-73.
12. Peredo C, Garron T, Pelegrino JL, Harris E, Gianella A. Detection and identification of dengue-2 virus from Santa Cruz-Bolivia by a single tube RT-PCR method. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1999; 41(3):207-8.
13. Van der Stuyft P, Gianella A, Pirard M, Cespedes J, Lora J, Peredo C, et al. Urbanisation of yellow fever in Santa Cruz, Bolivia. *Lancet* 1999; 353(9164):1558-62.
14. Van der Stuyft P, Gianella A, Pirard M, Holzman A, Peredo C, Boelaert M, et al. Short communication: dengue serotype 2 subtype III ('Jamaica') epidemic in Santa Cruz, Bolivia. *Trop Med Int Health* 1998;3(11):857-8.
15. Gellert GA. Preparing for emerging infections. *Nature* 1994; 370(6489):409-10.
16. Lederberg S, Shope RE, Oak S. *Emerging Infectious Diseases: Microbial Threats to Health in the United States of America*. Washington, D.C: Institute of Medicine, National Academy Press; 1992.
17. New, Emerging and Re-Emerging Infectious Disease. *Epidemiological Bulletin* 1995; 16(3):1-7.
18. Meeting to Establish a Network of Laboratories for the Surveillance of Emerging Infectious Disease (EID) in the Southern Cone Region. Buenos Aires, Argentina. PAHO/HCT/122/98 1998.
19. Meeting to Establish a Network of Laboratories for the Surveillance of Emerging Infections Diseases (EID) in The Amazon Region. Manaus, Brazil; 1998.
20. Informe anual de procedimientos de control de calidad para los laboratorios de serología de los bancos de sangre. Organización Panamericana de la Salud. 1994, pag.39.