



Colaboración especial

Biomarcadores para el despistaje de enfermedades infecciosas: una revolución diagnóstica para los países pobres

L. Madrid, M. Lanaspá, Q. Bassat

Publicado en Internet:
30-septiembre-2014

Quique Bassat:
quique.bassat@cresib.cat

Centre de Recerca en Salut Internacional de Barcelona (CRESIB, Hospital Clínic-Universitat de Barcelona). Barcelona. España • Centro de Investigação em Saúde de Manhiça (CISM). Maputo. Mozambique.

Resumen

El personal clínico que trabaja en países en desarrollo se enfrenta cada día al diagnóstico y tratamiento de niños enfermos. Malaria, neumonía y diarrea son las enfermedades infecciosas más importantes en los países con recursos limitados en términos de morbilidad y mortalidad infantil. La escasez de herramientas diagnósticas para determinar su etiología en estos medios es un problema frecuente, y por lo tanto es difícil orientar el manejo clínico, incluyendo la prescripción de medicamentos para estas patologías.

Por otro lado, los síntomas de malaria, de algunas infecciones bacterianas y de infecciones virales son a menudo compartidos y difíciles de distinguir en ausencia de apoyo diagnóstico. El reconocimiento erróneo de estas enfermedades puede aumentar la morbimortalidad pediátrica, así como los niveles de resistencia a fármacos antimaláricos y antibióticos.

Es importante, por tanto, desarrollar nuevas herramientas diagnósticas para enfermedades infecciosas que se puedan utilizar incluso en las zonas más rurales de países con recursos limitados.

Las pruebas de diagnóstico rápido de malaria son un buen ejemplo de estas herramientas de diagnóstico precoz, asequibles, accesibles, de resultado casi inmediato y con alto impacto en el diagnóstico de una de las enfermedades que más mortalidad causan en el mundo en desarrollo. La implementación de pruebas de diagnóstico rápido similares para otras enfermedades infecciosas, significaría sin duda un gran avance en el diagnóstico y manejo de las infecciones pediátricas, suponiendo un paso adelante en la disminución de la inaceptablemente alta mortalidad infantil que todavía afecta a estos países.

Palabras clave:

- Biomarcadores
- Test rápidos
- Infecciones
 - Malaria
- Mortalidad infantil

Biomarkers for the screening of pediatric infectious diseases: A true diagnostic revolution for the developing world

Abstract

Health workers in rural facilities in Africa are confronted every day with the diagnosis and treatment of sick children with infectious diseases. Malaria, pneumonia and diarrhea are among the most important infectious diseases in developing countries in terms of morbidity and mortality burden in children. However, there is a scarcity of diagnostic tools to determine the etiologic origin of these infections in health facilities in rural Africa, and therefore guide clinical management including the prescription of anti-malarials and/or antibiotics.

Clinical presentations of malaria, bacterial infections and viral infections often overlap, particularly in children. Misdiagnosis of malaria, bacterial infections and viral infections may increase the morbidity and mortality among children, as well as boost resistance levels to antimalarial drugs and antibiotics.

As a result, there is a need to develop new diagnostic tools for infectious diseases that can be used for diagnosis of such highly prevalent conditions in the developing world.

Malaria rapid diagnostic tests are a good example of these new diagnostic tools, affordable, accessible and with a high-impact on the diagnosis of one of the diseases causing more deaths in the developing world. Widespread implementation of tools similar to the RDTs for other infectious diseases, and particularly those of bacterial origin, will surely result in improvements in the recognition and management of life-threatening childhood infections, and in a reduction of their intolerable burden.

Key words:

- Biomarkers
- Rapid tests
- Infectious diseases
 - Malaria
- Child mortality

Cómo citar este artículo: Madrid L, Lanaspá M, Bassat Q. Biomarcadores para el despistaje de enfermedades infecciosas: una revolución diagnóstica para los países pobres. Rev Pediatr Aten Primaria. 2014;16:259-64.

INTRODUCCIÓN

La mortalidad infantil ha sufrido un retroceso sin precedentes en las últimas décadas, cayendo desde los 17 millones de muertes anuales en 1970, a alrededor de 6,3 millones en el año 2013¹. A pesar de este sorprendente y esperanzador progreso, la gran mayoría de estas muertes siguen estando concentradas en los países en desarrollo, de forma desproporcionada. Las enfermedades infecciosas, la mayoría de las cuales son tratables si se diagnostican adecuadamente, todavía representan casi dos tercios de todas las muertes en niños², siendo la malaria y las infecciones bacterianas las principales responsables de la mortalidad infantil en todo el mundo.

La amplia disponibilidad de pruebas de laboratorio y técnicas de imagen en los sistemas sanitarios de los países desarrollados y la abundancia de médicos con formación adecuada implica que llegar a un diagnóstico con precisión es rara vez un problema en esta parte del mundo. Sin embargo, en entornos con recursos limitados y en particular en las zonas rurales de los países más pobres, el diagnóstico es un reto al que se enfrenta el personal sanitario a diario. La falta de herramientas diagnósticas básicas, entre ellas laboratorios de microbiología o técnicas de imagen, así como la escasa formación del personal sanitario que soporta la mayor parte de la carga asistencial, ha llevado históricamente en esos medios a un enfoque basado en ineludibles algoritmos clínicos, ahora estructurados bajo la estrategia denominada “manejo integrado de las enfermedades de la infancia” (o IMCI, por sus siglas en inglés)³. A pesar de la similitud en la presentación de las principales infecciones pediátricas, que hace difícil diferenciarlas desde el punto de vista clínico, este enfoque sindrómico, muy sensible pero poco específico, ha salvado millones de vidas. Sin embargo, también ha contribuido muy posiblemente a una cierta incertidumbre generalizada en el diagnóstico, a un sobreuso indiscriminado de tratamientos, y en consecuencia muy probablemente a la aparición de resistencias a los antimicrobianos⁴.

La identificación precoz (idealmente en el primer contacto con el sistema de salud) de las condiciones potencialmente fatales, con independencia de la causa subyacente, y la caracterización etiológica inmediata de las infecciones bacterianas invasivas (IBI), son posiblemente las dos lagunas de diagnóstico más importantes que comprometen el pronóstico y la supervivencia de los niños en medios con escasos recursos. En el primer caso, se han buscado de forma extensiva los indicadores de riesgo o factores pronósticos (clínicos y de laboratorio) de las principales causas de morbilidad infantil, y forman parte de la estrategia IMCI y de otros algoritmos diagnósticos de evaluación de riesgo. Poder disponer de biomarcadores fácil y rápidamente detectables con un alto valor pronóstico ayudaría a identificar pronto y de forma más fiable que la evaluación clínica a los niños en riesgo de progresar hacia una enfermedad grave o la muerte, fomentando por tanto su manejo de modo mucho más agresivo y dirigido. Por otro lado, la identificación de las IBI (o de patógenos bacterianos específicos que causan IBI) sigue siendo un problema en entornos donde no existe un soporte microbiológico adecuado. Los biomarcadores sugestivos de IBI, y utilizados rutinariamente en países occidentales, como por ejemplo la proteína C reactiva o la procalcitonina, rara vez están disponibles en un medio con recursos limitados, o simplemente carecen de precisión suficiente para distinguir las IBI de otras patologías, particularmente en un contexto epidemiológico donde pueden coexistir la malaria⁵, la malnutrición⁶ y la inmunosupresión relacionada con el virus de la inmunodeficiencia humana.

LA DIFICULTAD EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES PEDIÁTRICAS: UN EJEMPLO REAL

En un estudio realizado en el Hospital Distrital de Manhica, un entorno rural del sur de Mozambique con recursos limitados y una población predominantemente joven (el 19,1% son menores de cinco años de edad y la tasa de mortalidad en menores de cinco años [5q0] en 2011 fue de 97/1000 naci-

dos vivos⁷), fueron reclutados niños menores de diez años con síntomas compatibles con neumonía según los criterios de la Organización Mundial de la Salud⁸, independientemente de su etiología. El objetivo era averiguar cuántos de estos niños tenían infecciones específicas “puras”, como por ejemplo malaria, neumonía bacteriana o viral, o infección bacteriana invasiva, y en qué grado existía una mezcla de estas patologías. En un análisis preliminar de los primeros 250 participantes en el estudio, solo 79 niños pudieron ser clasificados con un único diagnóstico basado en el cultivo bacteriano de líquidos estériles, gota gruesa y extensión de sangre periférica para el diagnóstico de malaria, aspirados nasofaríngeos para determinar etiología viral (por reacción en cadena de la polimerasa [PCR] *multiplex* de 12 virus respiratorios) y radiografía pulmonar. De estos 79 niños, en 18 se aisló algún agente bacteriano, 26 fueron diagnosticados de malaria y en 35 se identificaron diferentes virus respiratorios. Los restantes 171 participantes (68,4%) no pudieron ser clasificados en ningún grupo por no aislarse ningún microorganismo o por presentar infecciones mixtas. Estos datos reflejan las dificultades en el diagnóstico al que se enfrentan los clínicos en los países con recursos limitados. El descubrimiento de biomarcadores que sean capaces de orientar el tratamiento de forma precoz, basados en el reconocimiento de etiología subyacente, podrían potencialmente ayudar en el despistaje diagnóstico.

LAS PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE MALARIA: EL MODELO A SEGUIR

Las pruebas de diagnóstico inmunocromatográfico rápido de malaria, basadas en la detección de uno o más de los antígenos del *Plasmodium*, han significado una verdadera revolución en el campo de diagnóstico de esta enfermedad. La implementación progresiva de las pruebas de diagnóstico rápido (PDR) en áreas endémicas de malaria ha provocado un cambio de paradigma de su diagnóstico, alejándose del diagnóstico clínico, muy impreciso, y permitiendo una confirmación parasitológica de alta sensibilidad en la mayoría de los casos, incluso en ausencia de servicios de microscopía⁹. Las PDR de malaria son baratas, muy sensibles pero también específicas, no necesitan electricidad ni agua corriente, son fáciles de usar y muy rápidas para la detección y el diagnóstico de la infección por malaria. Quizás sus únicas desventajas son que estas pruebas detectan solo la infección (y no siempre la enfermedad), que son de naturaleza cualitativa (en lugar de permitir la cuantificación de la infección mediante la densidad parasitaria), y que, en algunos casos, la positividad del antígeno persiste durante semanas, incluso después de un tratamiento eficaz, lo que dificulta la evaluación de los fracasos de tratamiento y de la evolución de la enfermedad. Un resultado positivo puede ser falsamente tranquilizador para los clínicos, atribuyendo un diagnóstico que puede ocultar otras causas de enfermedad. Sin embargo, el diagnóstico basado en una prueba de laboratorio, accesible incluso a las comunidades de las zonas rurales más remotas, ha “democratizado”¹⁰ el reconocimiento de la malaria y debe ser el modelo a seguir para mejorar el diagnóstico de otras infecciones que afectan a la edad pediátrica. Su rápida expansión ha provocado inseguridad respecto a qué hacer con los pacientes con resultado negativo para la malaria, precisamente porque las herramientas de diagnóstico para las fiebres no maláricas siguen siendo escasas¹¹.

Actualmente existen dos grandes estrategias complementarias para mejorar el diagnóstico de las infecciones en niños. Por un lado, los métodos dirigidos a la identificación de agentes infecciosos específicos (o antígenos de los patógenos), y por otro lado, los basados en la detección de respuestas específicas de los huéspedes a los patógenos causantes de la enfermedad. Más allá de las pruebas de diagnóstico rápido basadas en la reacción antígeno/anticuerpo, los métodos de diagnóstico molecular basados en la PCR son actualmente consi-

ESTRATEGIAS PARA MEJORAR EL DIAGNÓSTICO EN PAÍSES POBRES

Actualmente existen dos grandes estrategias complementarias para mejorar el diagnóstico de las infecciones en niños. Por un lado, los métodos dirigidos a la identificación de agentes infecciosos específicos (o antígenos de los patógenos), y por otro lado, los basados en la detección de respuestas específicas de los huéspedes a los patógenos causantes de la enfermedad. Más allá de las pruebas de diagnóstico rápido basadas en la reacción antígeno/anticuerpo, los métodos de diagnóstico molecular basados en la PCR son actualmente consi-

derados los más fiables para el diagnóstico certero de la mayoría de las infecciones, pero requieren infraestructuras de laboratorio sofisticadas y costosas, un procesamiento avanzado y recursos humanos bien capacitados, que hacen difícil su aplicación generalizada en entornos donde los recursos son limitados.

Asimismo, y de forma muy innovadora, se está intentando adaptar estos métodos moleculares al diagnóstico automatizado, tipo “muestra-respuesta”¹⁰, a través del diseño de plataformas microfluidicas específicas para enfermedades o síndromes (“laboratorio en un chip”¹²), que incluyen todos los pasos del procesamiento de muestras (filtración, extracción, purificación, amplificación e identificación de ácidos nucleicos de patógenos) así como el resto de reactivos necesarios para la PCR. El uso de tecnologías moleculares modificadas para un diagnóstico más sencillo y más económico de las enfermedades infecciosas tiene un enorme potencial y actualmente es considerado por los expertos como la principal biotecnología para mejorar el estado de salud de los países en desarrollo¹³.

El uso de tecnologías de genómica y proteómica es otra vía interesante para el diagnóstico de enfermedades infecciosas. La tecnología de alto rendimiento basada en las diferentes plataformas “ómicas” ya permite una comprensión completa de los genes expresados y de las proteínas o péptidos producidos por –o como respuesta a– cualquier patógeno particular. La capacidad de detectar estas respuestas específicas de las proteínas es de particular interés para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas en el mundo en desarrollo, y es la base de las pruebas que usan métodos de reconocimiento de anticuerpos, inmunoensayos enzimáticos o inmunocromatografía de flujo lateral¹⁴. La investigación de biomarcadores vinculados a la proteómica está evolucionando rápidamente, y podría proporcionar en breve biomarcadores robustos y fácilmente detectables en suero, que podrían constituir la base de futuras PDR utilizables para diferenciar las infecciones pediátricas más comunes y asegurar un manejo clínico más preciso y dirigido a la causa real de la enfermedad¹⁵.

REQUISITOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN PAÍSES POBRES

En medios con poca o ninguna infraestructura de laboratorio, los trabajadores sanitarios tienen que asumir los aspectos técnicos de la implementación de nuevas pruebas de diagnóstico, a menudo en ausencia de un suministro fiable de electricidad, de agua potable o de la capacidad de almacenamiento en frío. Por lo tanto, la sencillez se convierte en el requisito más esencial para un nuevo test diagnóstico, junto con la estabilidad térmica de la prueba (y sus reactivos)¹⁰, la asequibilidad económica y la garantía de un resultado precoz (máximo 60 minutos). Con ello, el manejo clínico del paciente puede ser decidido e iniciado antes de que abandone el centro sanitario. Una prueba de diagnóstico óptima debe ser cuantificable con una cantidad mínima de sangre (preferiblemente obtenida mediante punción capilar del dedo o del talón, en lugar de punción venosa) o usando procedimientos menos invasivos y con muestras más fáciles de obtener, tales como la saliva, el fluido crevicular, la orina o incluso el vaho producido por la respiración. La manipulación y el almacenamiento de las muestras recogidas para las pruebas también deben ser simples, ya sea por medio de la aplicación directa al test diagnóstico (que imitan a las PDR de malaria o las pruebas de embarazo), o con la conservación de las muestras a temperatura ambiente en papel de filtro¹⁶. Estas pruebas también deben tener una alta sensibilidad y valores predictivos negativos (idealmente >95%), sin comprometer su especificidad y valor predictivo positivo (alrededor del 85-90%)⁴. Por último, los biomarcadores óptimos deben ser medibles y detectables tan pronto como comience la infección y deberían persistir elevados un periodo suficientemente largo como para que cualquier niño que busque atención sanitaria días después del inicio de la infección pueda ser diagnosticado correctamente. La cinética de los biomarcadores elegidos para hacer los test diagnósticos también debería evolucionar en paralelo a la progresión de la enfermedad, a fin de permitir

el adecuado seguimiento de la respuesta al tratamiento.

La combinación de diferentes biomarcadores en una sola prueba también podría permitir un enfoque complementario para el diagnóstico de una o más infecciones y la evaluación del pronóstico del paciente.

EL CAMINO A SEGUIR

El imparable avance de la ciencia de los biomarcadores ha proporcionado una gran cantidad de ellos asociados a diversas enfermedades, pero con escasa aplicabilidad clínica directa. La validación de estas moléculas para su uso en el diagnóstico de enfermedades infecciosas en el mundo en desarrollo (una tarea a medio o largo plazo), requerirá estudios prospectivos diseñados cuidadosamente y ensayos clínicos con definiciones rigurosas de infección, enfermedad y de interpretación de resultados. Al mismo tiempo, será necesaria una mejora de la capacidad técnica y humana en los medios donde el uso de dichos biomarcadores pueda tener una mayor utilidad. Es importante destacar que el contexto epidemiológico específico de estos entornos, con alta carga de coinfecciones y de desnutrición, plantea retos importantes para la extrapolación de los estudios clínicos que se realizan en el mundo desarrollado. Por lo tanto, el desarrollo de métodos de identificación de patógenos específicos simples de usar, individualizados o “multiplexados”, también deberá ser cuidadosamente validado en entornos con recursos limitados. Aunque estas nuevas herramientas tendrán sin duda una utilidad e impactos mayores en estos medios, podrían también ser utilizadas en los países más ricos para facilitar la tarea del personal sanitario en el despistaje y posterior manejo de aquellos pacientes en los que se sospecha una enfermedad infecciosa potencialmente grave.

CONCLUSIÓN

Las existentes brechas de salud y de tecnología entre los países ricos y pobres están obligando a la comunidad científica a reinventar herramientas diagnósticas que puedan ser aplicadas en el mundo en desarrollo, donde la carga devastadora de las enfermedades infecciosas hace su uso mucho más necesario. La implementación generalizada de pruebas de diagnóstico asequibles económicamente, accesibles y de alto impacto, sin duda dará lugar a mejoras en la identificación y en el tratamiento de las infecciones que amenazan la vida en la infancia, contribuyendo potencialmente también a disminuir la inaceptablemente alta mortalidad infantil.

FINANCIACIÓN

La fundación Bill y Melinda Gates (OPP500092) financia el estudio mencionado en el texto, cuyo objetivo principal es la búsqueda de biomarcadores diagnósticos que permitan el diagnóstico diferencial entre malaria, neumonía bacteriana y neumonía viral. Quique Bassat es beneficiario del programa Miguel Servet del ISCIII (Plan Nacional de I+D+I 2008-2011, CP11/00269). Lola Madrid es beneficiaria del programa Río Hortega del ISCIII (CM13/00260).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no presentar conflictos de intereses en relación con la preparación y publicación de este artículo.

ABREVIATURAS

IBI: infecciones bacterianas invasivas • **IMCI:** manejo integrado de las enfermedades de la infancia • **PCR:** reacción en cadena de la polimerasa • **PDR:** pruebas de diagnóstico rápido.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wang H, Liddell CA, Coates MM, Mooney MD, Levitz CE, Schumacher AE, *et al.* Global, regional, and national levels of neonatal, infant, and under-5 mortality during 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 2014; 384:957-79.
2. Liu L, Johnson HL, Cousens S, Perin J, Scott S, Lawn JE, *et al.* Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. *Lancet.* 2012;379:2151-61.
3. Gove S. Integrated management of childhood illness by outpatient health workers: technical basis and overview. The WHO Working Group on Guidelines for Integrated Management of the Sick Child. *Bull World Health Organ.* 1997; 75 Suppl 1:7-24.
4. Urdea M, Penny LA, Olmsted SS, Giovanni MY, Kaspar P, Shepherd A, *et al.* Requirements for high impact diagnostics in the developing world. *Nature.* 2006; 444 Suppl 1:73-9.
5. Díez-Padrís N, Bassat Q, Machevo S, Quintó L, Morais L, Nhampossa T, *et al.* Procalcitonin and C-reactive protein for invasive bacterial pneumonia diagnosis among children in Mozambique, a malaria-endemic area. *PLoS One.* 2010;5:e13226.
6. Page AL, de Rekeneire N, Sayadi S, Aberrane S, Janssens AC, Dehoux M, *et al.* Diagnostic and prognostic value of procalcitonin and C-reactive protein in malnourished children. *Pediatrics.* 2014;133:e363-70.
7. Sacoor C, Nhalungo A, Nhalungo D, Aponte JJ, Bassat Q, Augusto O, *et al.* Profile: Manhica Health Research Centre (Manhica HDSS). *Int J Epidemiol.* 2013;42: 1309-18.
8. World Health Organization. Pocket book for hospital care of children: guidelines for the management of common illness with limited resources. Second edition. Geneva: WHO; 2013.
9. Abba K, Deeks JJ, Olliaro P, Naing CM, Jackson SM, Takwoingi Y, *et al.* Rapid diagnostic tests for diagnosing uncomplicated *P. falciparum* malaria in endemic countries. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;(7): CD008122.
10. Abou Tayoun AN, Burchard PR, Malik I, Scherer A, Tsongalis GJ. Democratizing molecular diagnostics for the developing world. *Am J Clin Pathol.* 2014; 141:17-24.
11. Chappuis F, Alirol E, d'Acromont V, Bottieau E, Yansouni CP. Rapid diagnostic tests for non-malarial febrile illness in the tropics. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:422-31.
12. Foudeh AM, Fatanat Didar T, Veres T, Tabrizian M. Microfluidic designs and techniques using lab-on-a-chip devices for pathogen detection for point-of-care diagnostics. *Lab Chip.* 2012;12:3249-66.
13. Daar AS, Thorsteinsdottir H, Martin DK, Smith AC, Nast S, Singer PA. Top ten biotechnologies for improving health in developing countries. *Nat Genet.* 2002;32:229-32.
14. Tanca A, Deligios M, Addis MF, Uzzau S. High throughput genomic and proteomic technologies in the fight against infectious diseases. *J Infect Dev Ctries.* 2013; 7:182-90.
15. Huang H, Ideh RC, Gitau E, Thezenas ML, Jallow M, Ebruke B, *et al.* Discovery and validation of biomarkers to guide clinical management of pneumonia in african children. *Clin Infect Dis.* 2014;58:1707-15.
16. Selva L, Benmessaoud R, Lanaspá M, Jroundi I, Moraleda C, Acacio S, *et al.* Detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type B by real-time PCR from dried blood spot samples among children with pneumonia: a useful approach for developing countries. *PLoS One.* 2013;8:e76970.