

Algoritmos de laboratorio para la vigilancia de arbovirus emergentes y re-emergentes en Las Américas

Jairo A. Méndez-Rico, PhD

Regional Advisor Viral Diseases

PAHO Health Emergencies Department (PHE)

PAHO/WHO, Washington DC



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Enfermedades Emergentes

Microbial Threats to Health in the United States

1992, Instituto de Medicina (USA)

(Joshua Lederberg & Robert Shope)

- **Enfermedades emergentes:** se reconocen nuevas enfermedades / nuevos patógenos / nuevos territorios/ nuevos huéspedes/ nuevas variantes
- **Enfermedades re-emergentes:** Ya se habían controlado pero “re-aparecen” por diversos factores aumentando la incidencia



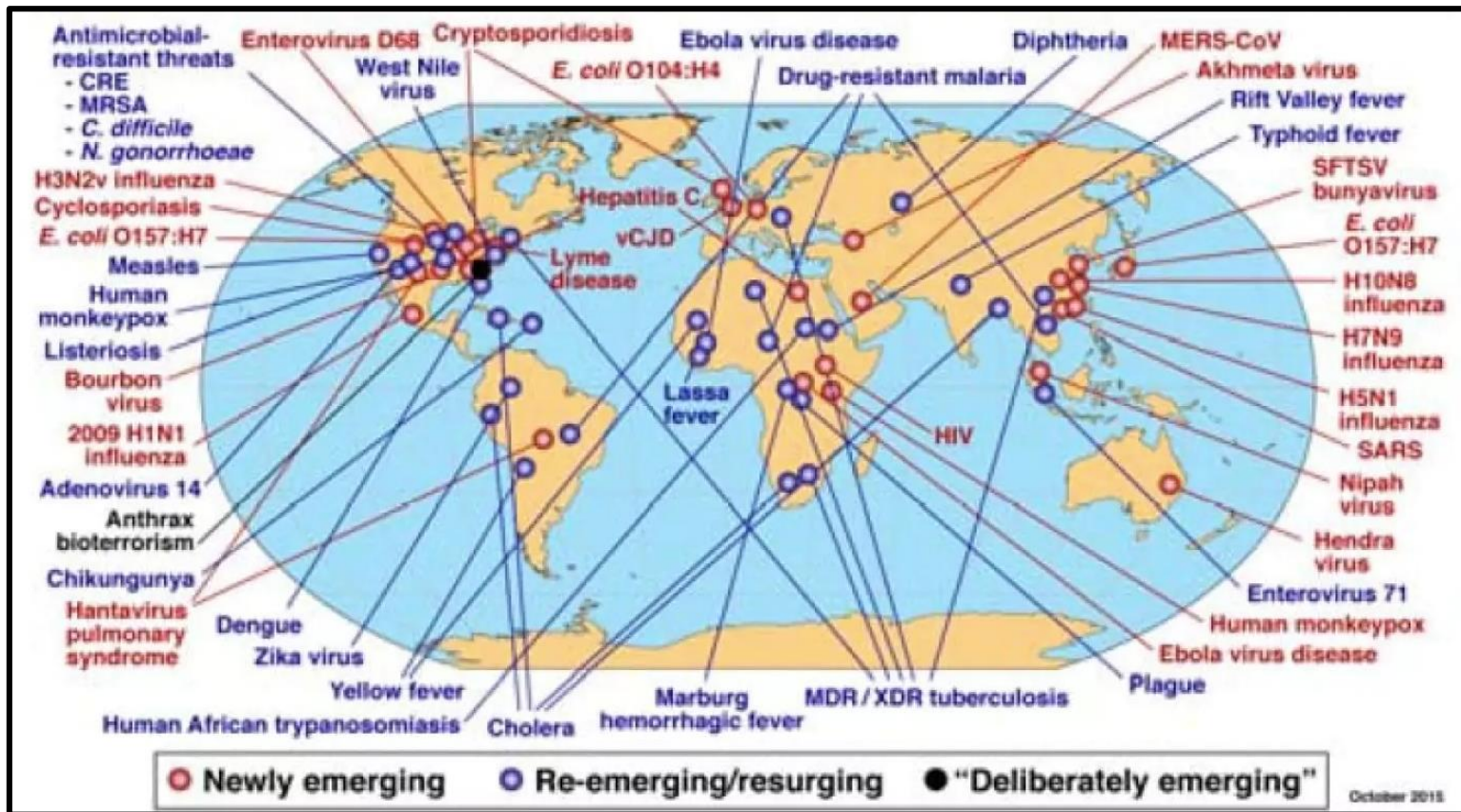
Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Enfermedades emergentes & re-emergentes, 1996-2015



National Institute of Allergy and Infectious Diseases, reproduced by The Washington Post, 2016

Enfermedades Emergentes

- Arbovirus (*Arthropod-Borne Virus*): Transmitidos por artrópodos hematófagos (mosquitos, garrapatas, pulgas, etc.)

Flaviviridae

Togaviridae

Bunyaviridae

Reoviridae

La emergencia y circulación dependen de la presencia, distribución y abundancia del vector



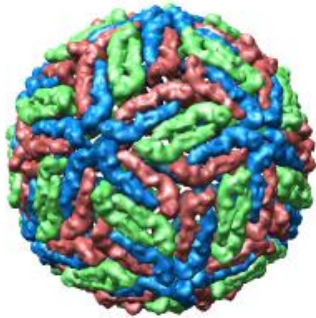
Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

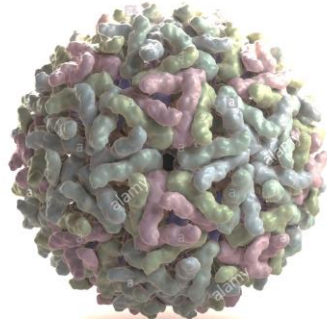
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Enfermedades Emergentes



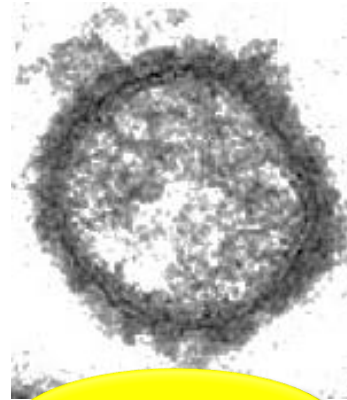
Flaviviridae

- Fiebre amarilla
- Dengue
- Zika
- West Nile
- Encefalitis Japonesa
- (≈70...)



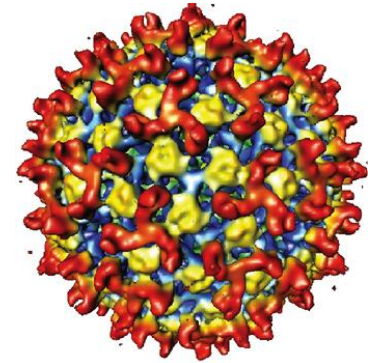
Togaviridae

- Chikungunya
- Mayaro
- Ross River
- Encefalitis Equinas
- (≈30...)



Bunyaviridae

- Enc La Crosse
- Oropouche
- Valle de Rift
- (≈20...)



Reoviridae

- Orbivirus



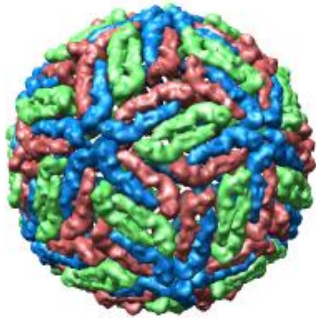
Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

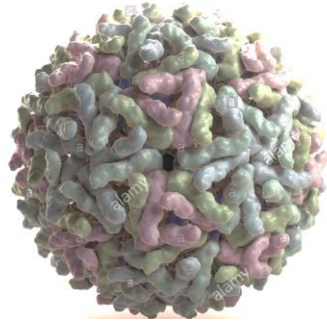
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Enfermedades Emergentes



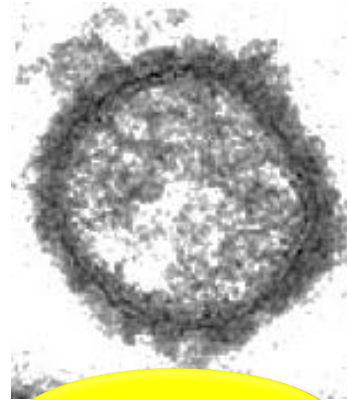
Flaviviridae

- **Fiebre amarilla**
- **Dengue**
- **Zika**
- **West Nile**
- **Encefalitis Japonesa**
- ($\approx 70\dots$)



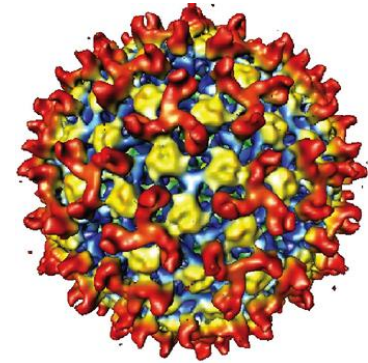
Togaviridae

- **Chikungunya**
- **Mayaro**
- Ross River
- **Encefalitis Equinas**
- ($\approx 30\dots$)



Bunyaviridae

- Enc La Crosse
- **Oropouche**
- Valle de Rift
- ($\approx 20\dots$)



Reoviridae

- Orbivirus

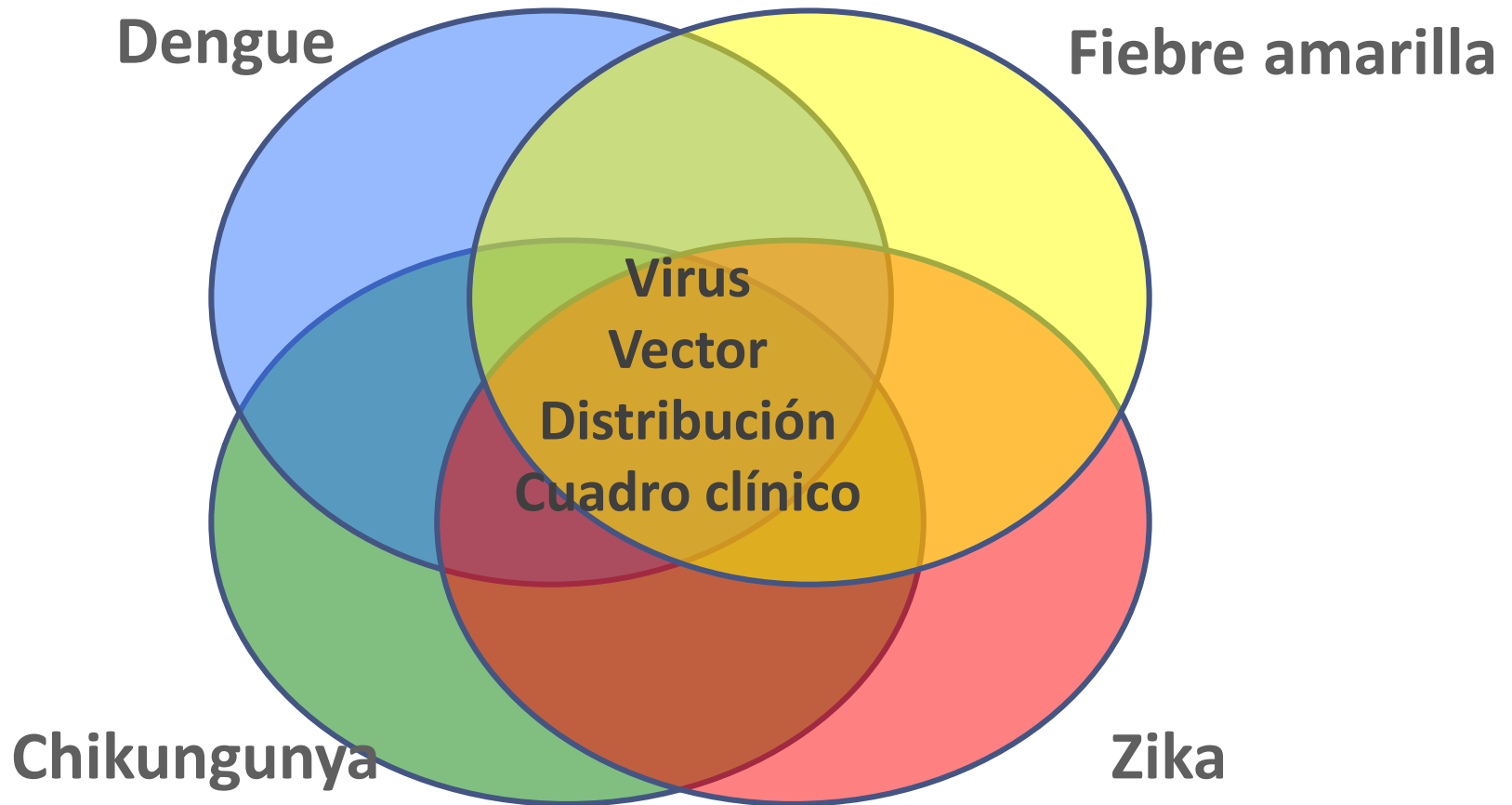


Pan American
Health
Organization



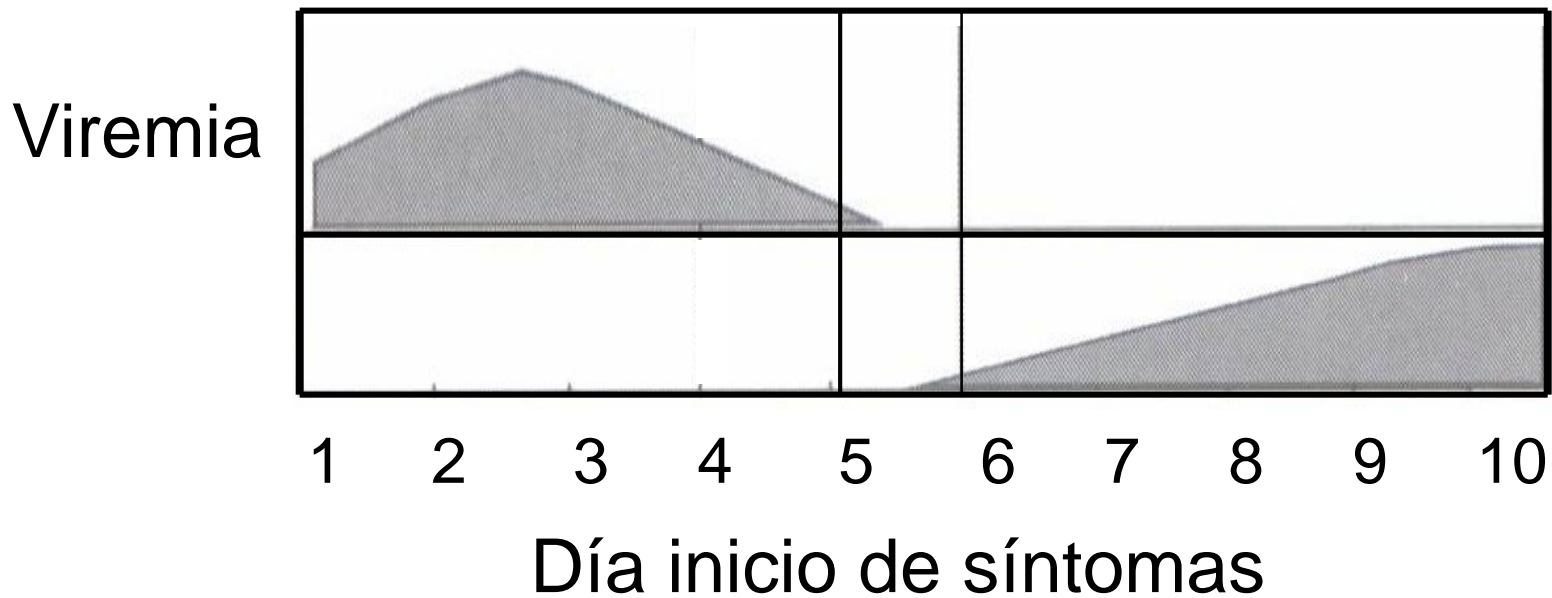
World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Un reto para el diagnóstico (similitudes y diferencias)



Algoritmos de laboratorio

Dinámica de la infección: Replicación / Respuesta inmune



Con base en esta dinámica se debe seleccionar el mejor tipo de ensayo



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Algoritmos de laboratorio

Dinámica de la infección: Replicación / Respuesta inmune

- **Dx. VIROLÓGICO**

- Aislamiento (células, etc.)
- Detección de antígenos (ELISA, IF, IHQ)
- Detección de RNA (RT-PCR)

- **Dx. SEROLÓGICO**

- MAC-ELISA
- HI
- PRNT
- Otros



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Fiebre amarilla

...

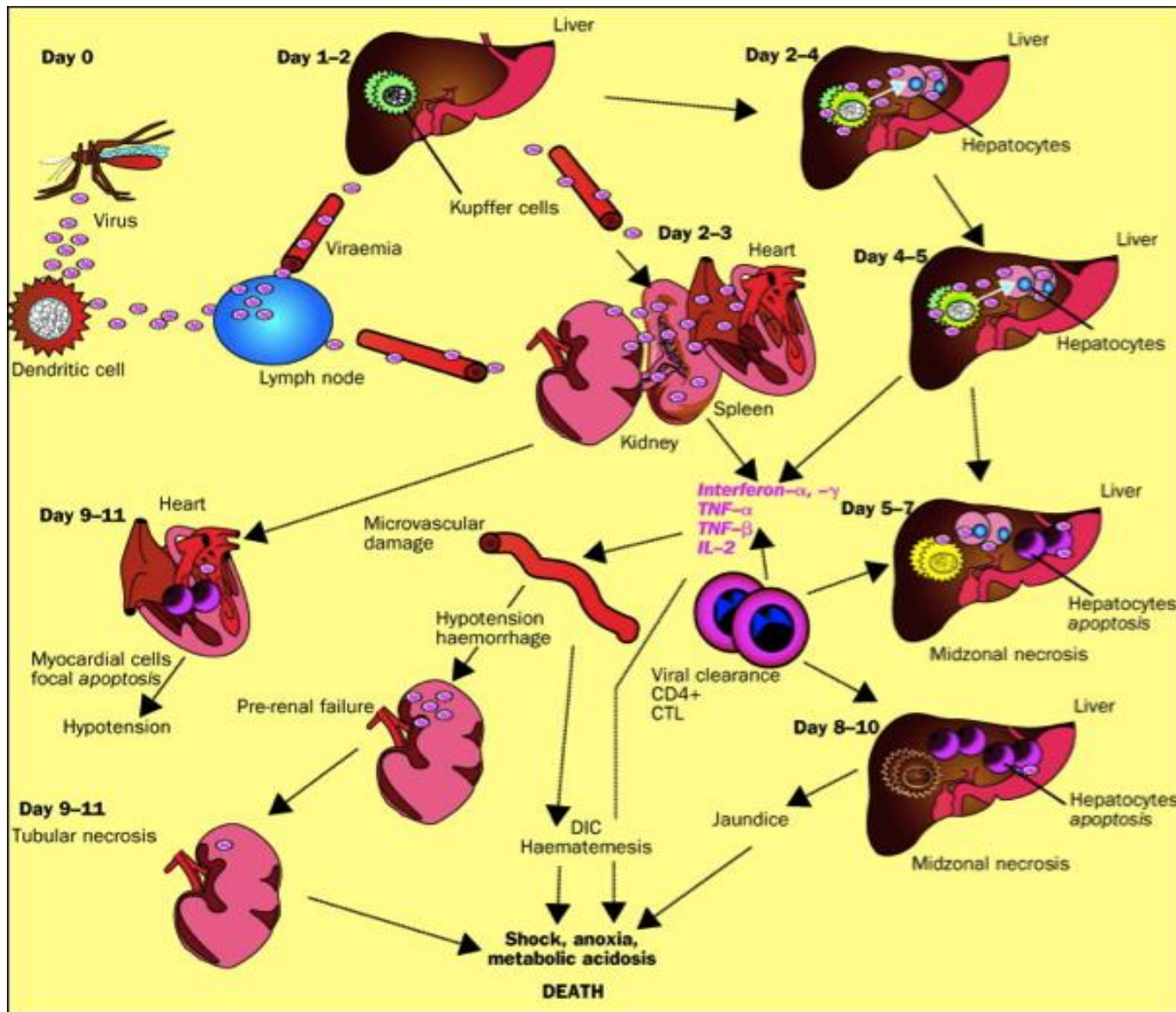


Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Fiebre Amarela



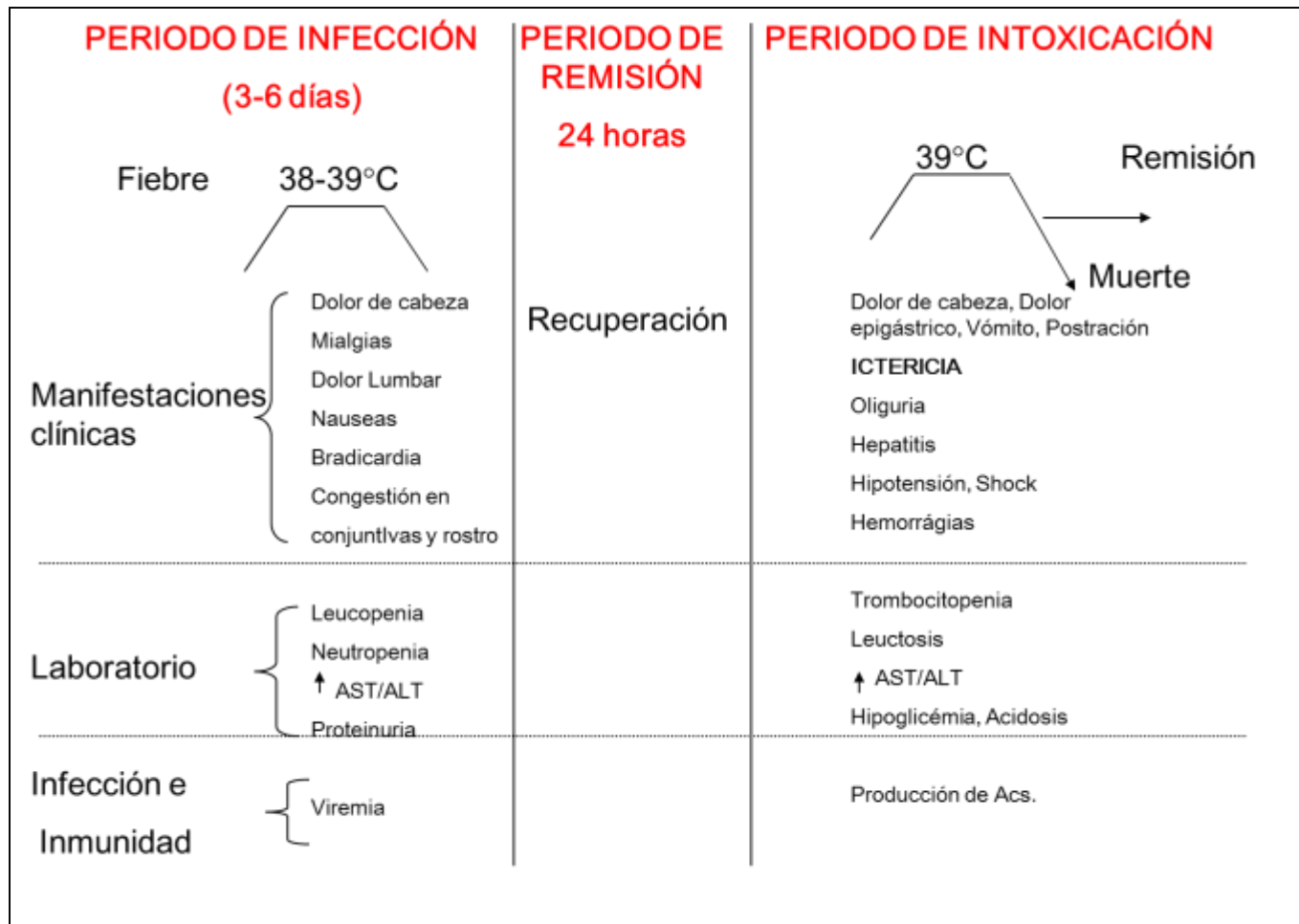
Organização
Pan-Americana
da Saúde



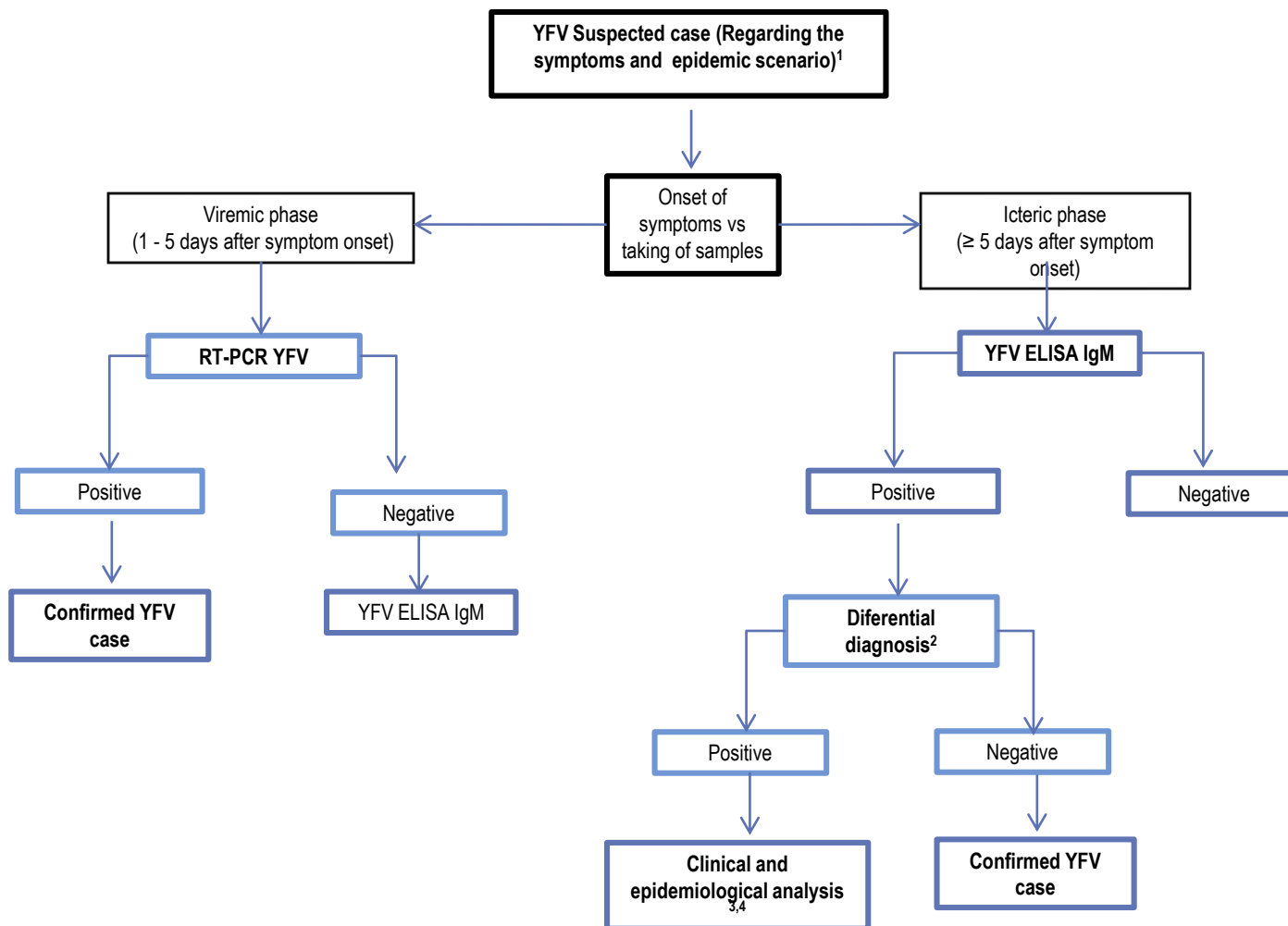
Organização
Mundial da Saúde
Américas

Fiebre Amarilla

- Virus *viscerotrópico*; coagulopatías y lesiones multiorgánicas graves
- Cerca de 50% de los casos en fase tóxica resultan en casos fatales



Fiebre Amarela



Caso sospechoso NO vacunado



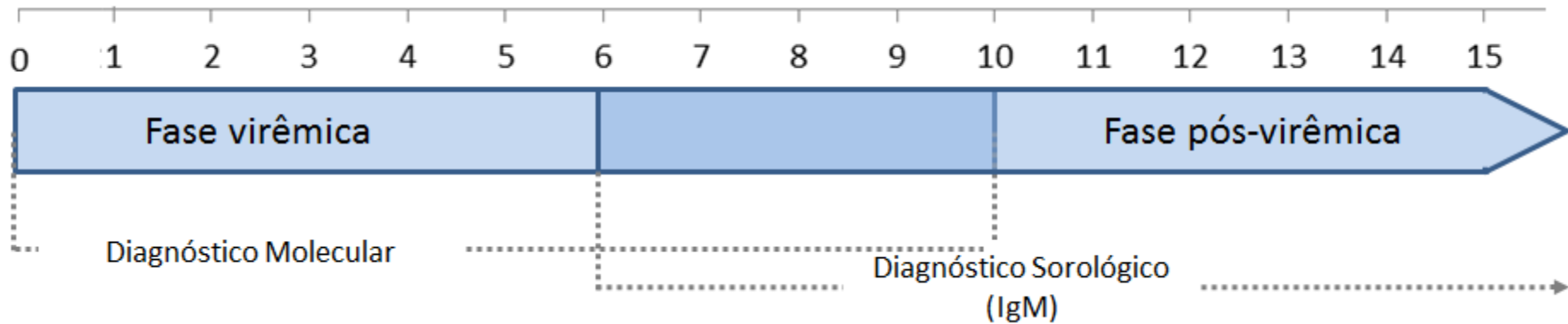
Organização
Pan-Americana
da Saúde



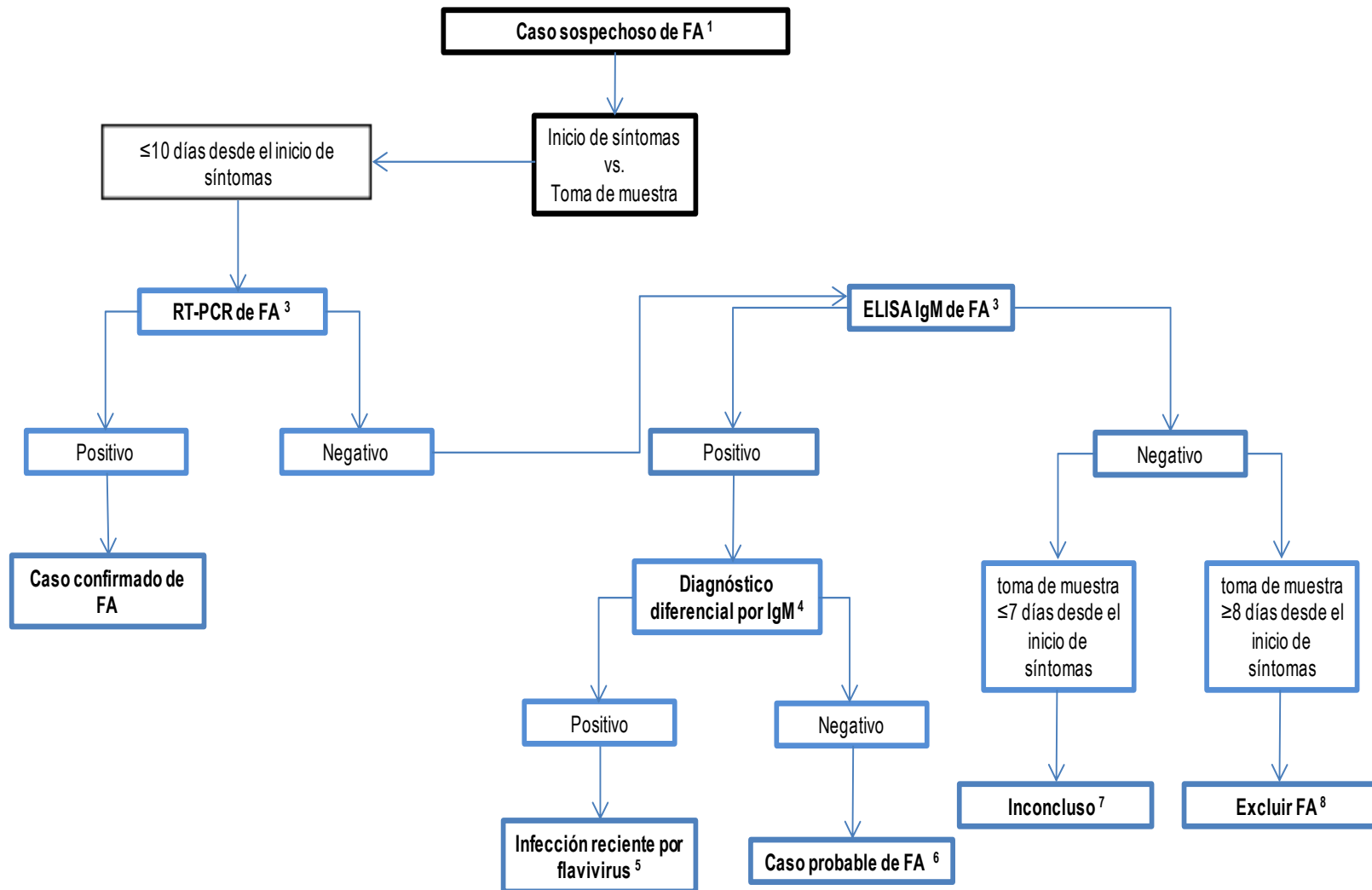
Organização
Mundial da Saúde
ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS Américas

Fiebre Amarela

Indicación diagnóstica según número de días de infección



Fiebre Amarilla



Caso sospechoso NO vacunado

Fiebre Amarilla

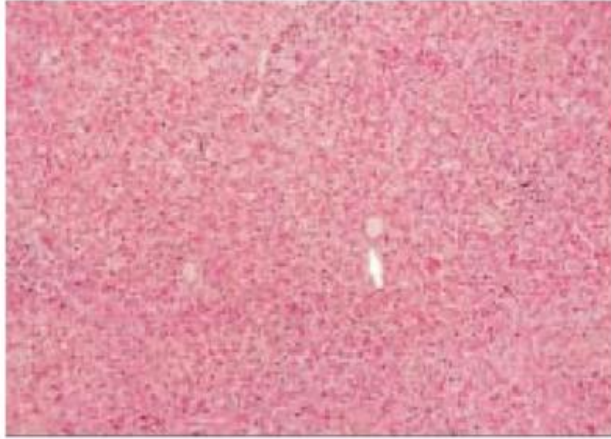


Figura 2. Microfotografía hepática H&E 20X, se identifica necrosis generalizada en las diferentes zonas del lobulillo hepático, la flecha indica el área perivenular, el infiltrado inflamatorio es mínimo.

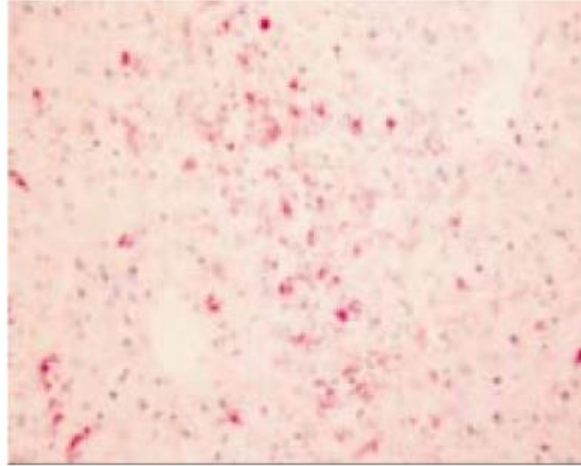


Figura 3a. Microfotografía hepática con inmunorreactividad positiva para los antígenos amarílicos, con la técnica avidina-biotina-fosfatasa alcalina. 40X.

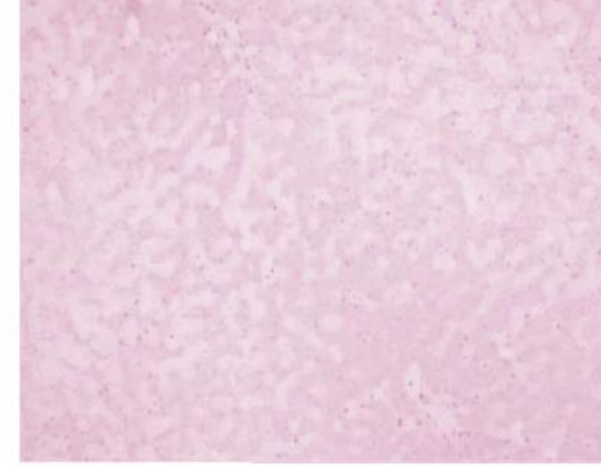


Figura 3b. Microfotografía hepática con inmunorreactividad negativa para los antígenos amarílicos, con la técnica avidina-biotina-fosfatasa alcalina. 40X.

Méndez JA, Parra E, Neira M, Rey GJ

Biomédica 2007;27:461-7



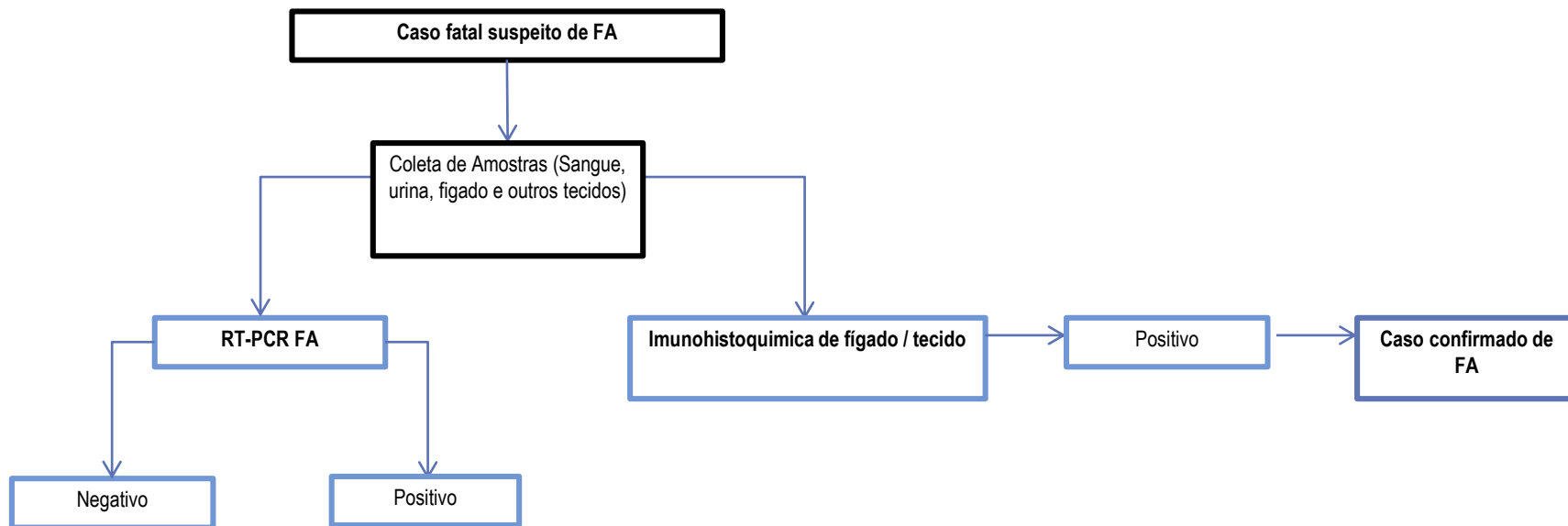
Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS Américas

Fiebre Amarela

Algoritmo para estudo de casos fatales



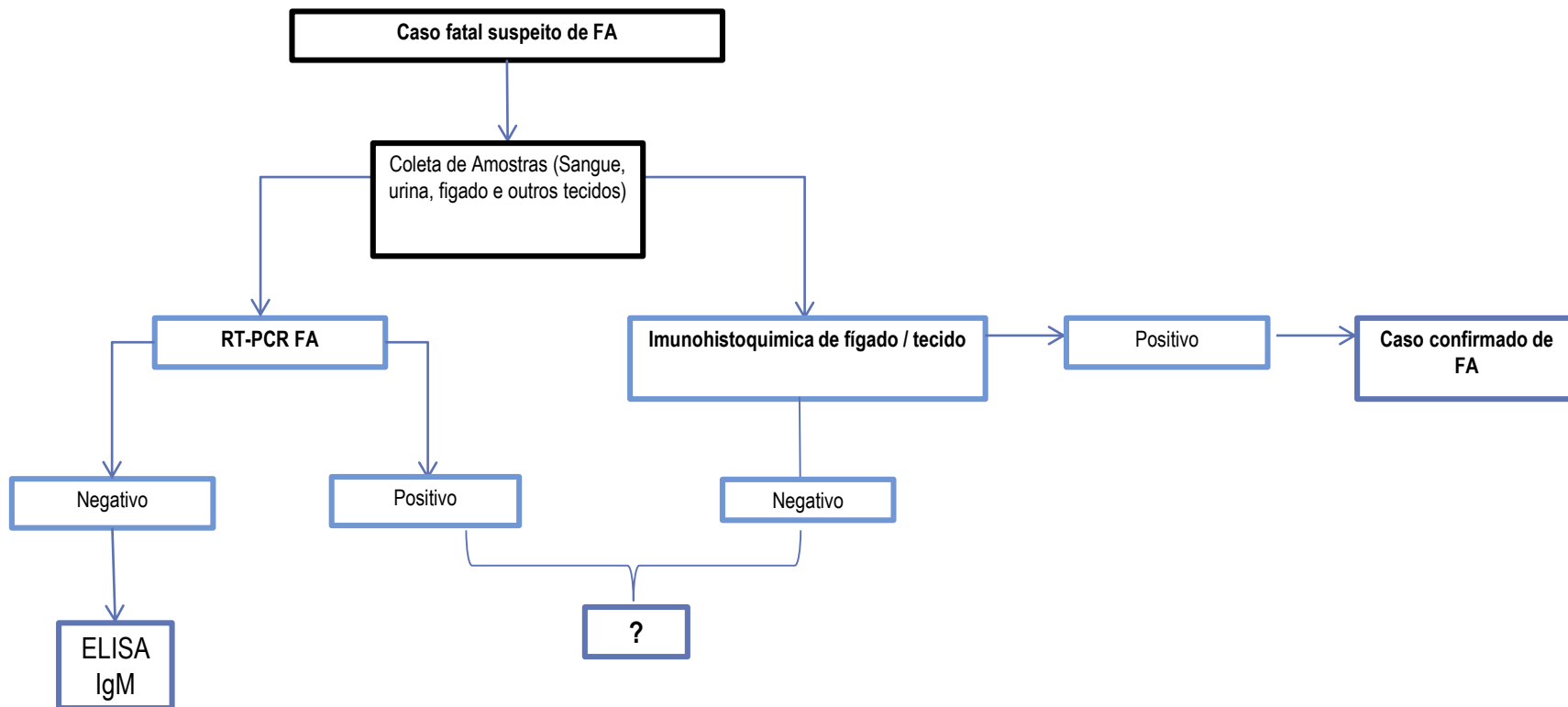
Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS Américas

Fiebre Amarela

Algoritmo para estudio de casos fatales



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
Américas

ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS Américas

Chikungunya

...



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Países/territorios con transmisión autóctona o casos importados de Chikungunya en las Américas, SE 49, 2013 - SE 39, 2017



Fuente de datos:
OPS/OMS. Número de casos reportados de fiebre chikungunya en las Américas
<http://www.paho.org/viruschikungunya>
Producción del Mapa:
OPS-OMS Emergencias en Salud (PHE)

*Nota: Se han representado en el mapa países enteros aunque los mapas estadísticos de presencia del virus en todo el país de Organización Panamericana de la Salud (OPS) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2017. Sobre los detalles estadísticos, las denominaciones empleadas en estos mapas y la forma en que aparecen representados los países son únicamente para fines de información por parte de la Secretaría de la Organización Panamericana de la Salud, como algunos países no cuentan con fronteras de países, territorios, ciudades o áreas, a fin de sus estadísticas, en respecto del tamaño de sus fronteras o límites. Los datos estadísticos de los mapas representan de manera aproximada fronteras trazadas de los países que se los han proporcionado.

2015:

Casos sospechosos: 541.468
Casos confirmados: 18.039
Fallecidos: 60

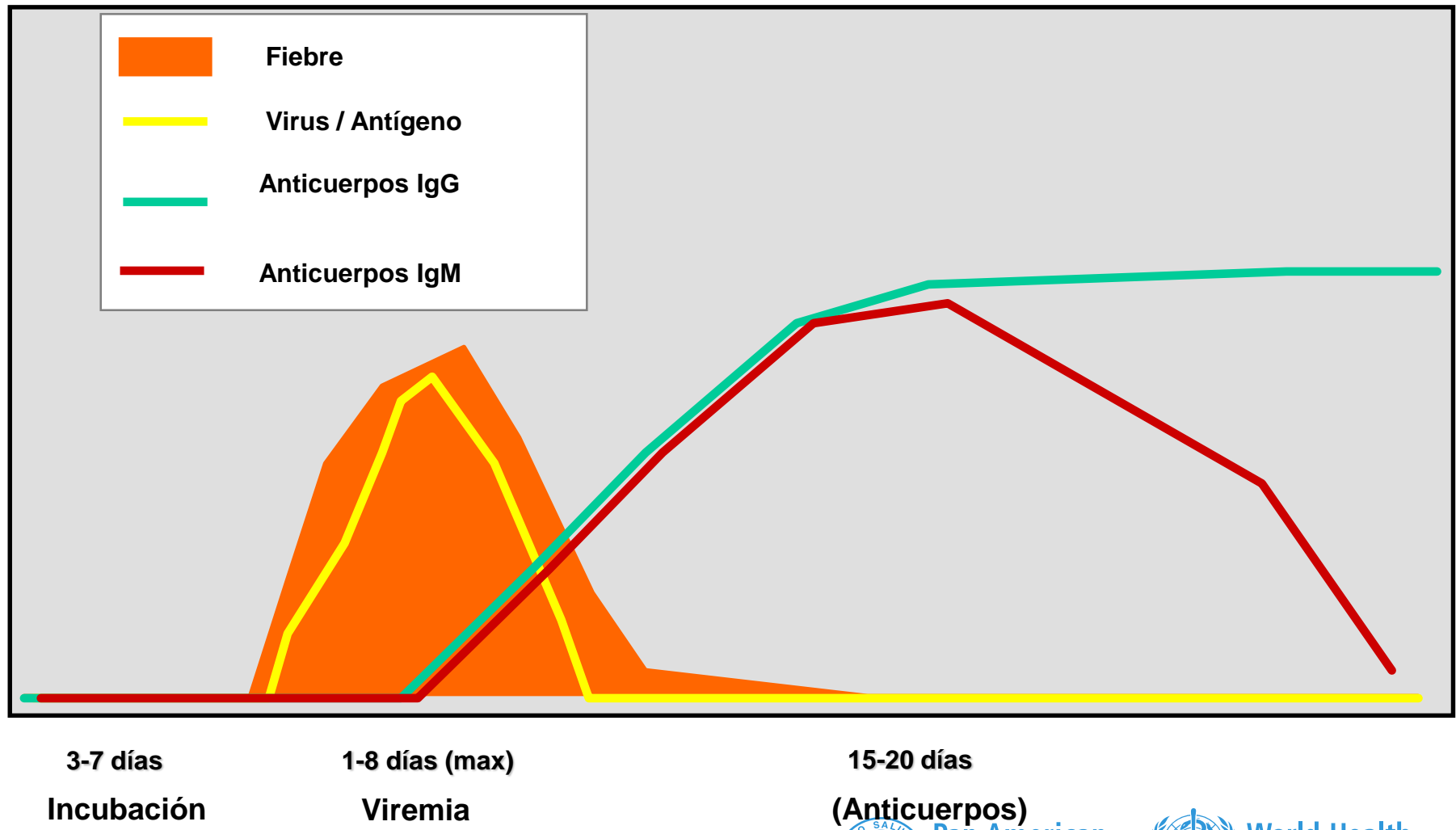
2016 (Casos Acumulados desde SE 1

hasta 52 (actualizado 27/01/2017):
Casos sospechosos: 351.334
Casos confirmados: 152.769
Fallecidos: 172

2017 (Casos Acumulados desde SE 1

hasta 39 (actualizado 29/09/2017):
Casos sospechosos: 60.039
Casos confirmados: 122.856
Fallecidos: 101

Chikungunya



Adaptado de: Chikungunya overview, Dr. P. Formenty

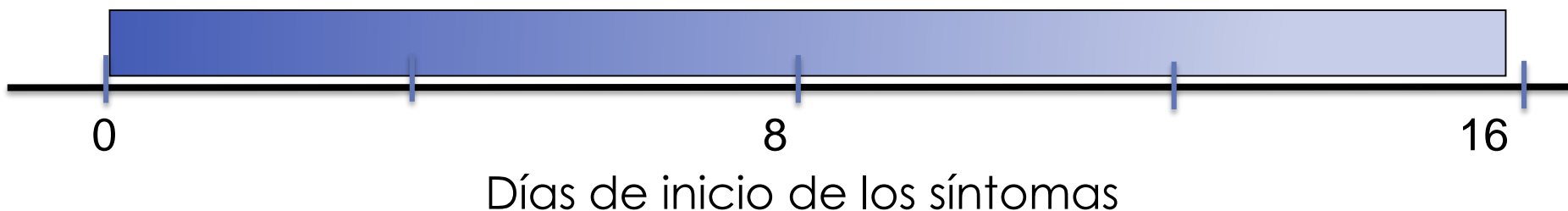
Chikungunya

- **VIROLÓGICO**

- Aislamiento viral
BSL 3
- Detección RNA (RT-PCR)

- **SEROLÓGICO**

- MAC-ELISA
- HI
- PRNT



Detección viral: Días 0 a 5 (max 8)

Detección Acs (IgM): Día 5 en adelante



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Chikungunya: Diagnóstico serológico

Consideraciones y limitaciones

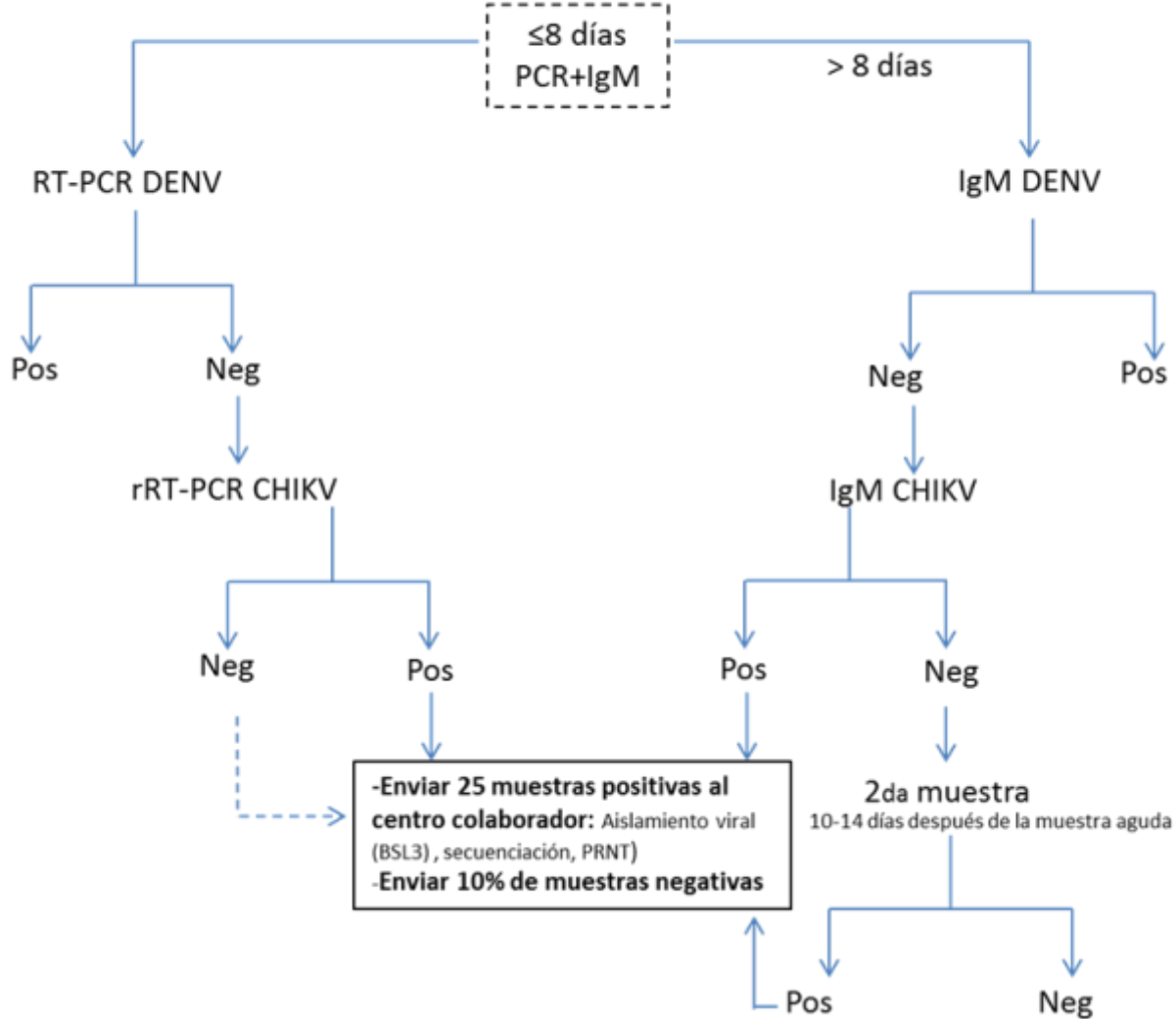
- Detección en una sola muestra es **PRESUNTIVO**
- Confirmación serológica involucra muestras pareadas (10 -14 días después de la primera muestras)
 - **Seroconversión (Neg a Pos)**
 - **Aumento de títulos (4 veces)**
- ELISA es **QUALITATIVO** (no-cuantitativo)
- Técnicas cuantitativas incluyen HI o neutralización (> especificidad)
- Reacciones cruzadas con otros alphavirus tienen que ser consideradas (depende de la epidemiología del país; MAYV, p.e.)



Muestra de caso sospechoso*

CHIKV

Inicio de síntomas vs. toma de muestra



Zika

...



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Investigación epidemiológica de síndrome con *rash*

Noreste de Brasil, Mayo 2015

Rash, inflamación en articulaciones, hiperemia conjuntival (dengue-like)



Fuente: Research team of the São Luís/MA municipal health office - From a presentation by the Ministry of Health of Brazil, 2015



Pan American
Health
Organization

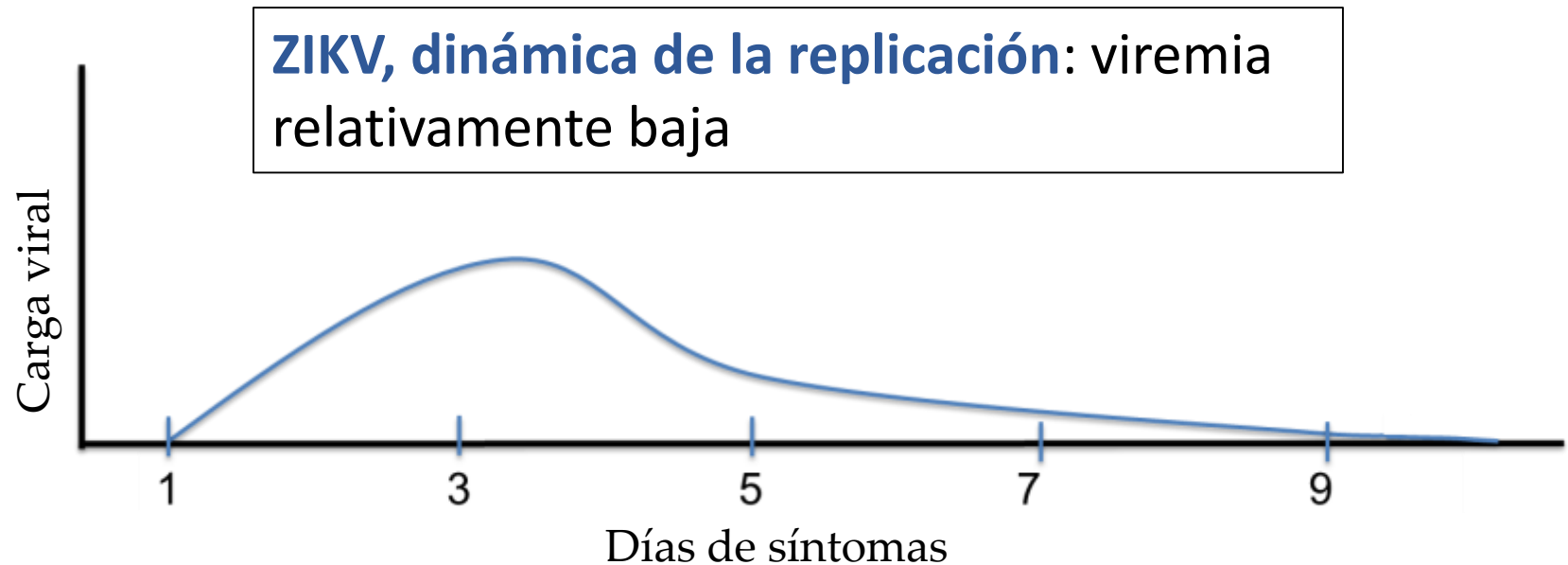


World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Zika: Diagnóstico

- Diagnóstico diferencial: **DENV**, **CHIKV**, YFV, WNV



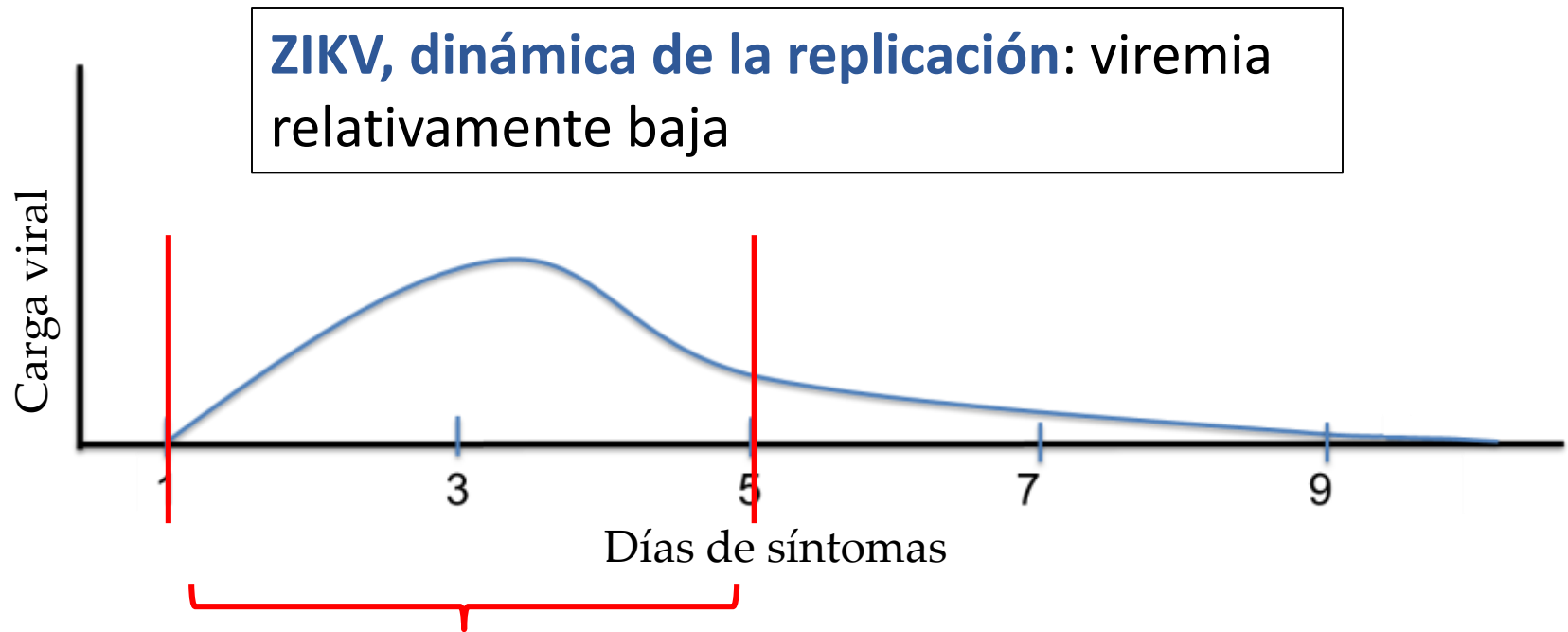
Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Zika: Diagnóstico

- Diagnóstico diferencial: **DENV**, **CHIKV**, YFV, WNV



Detección molecular (RT-PCR)

Nivel de contención requerido: BSL2



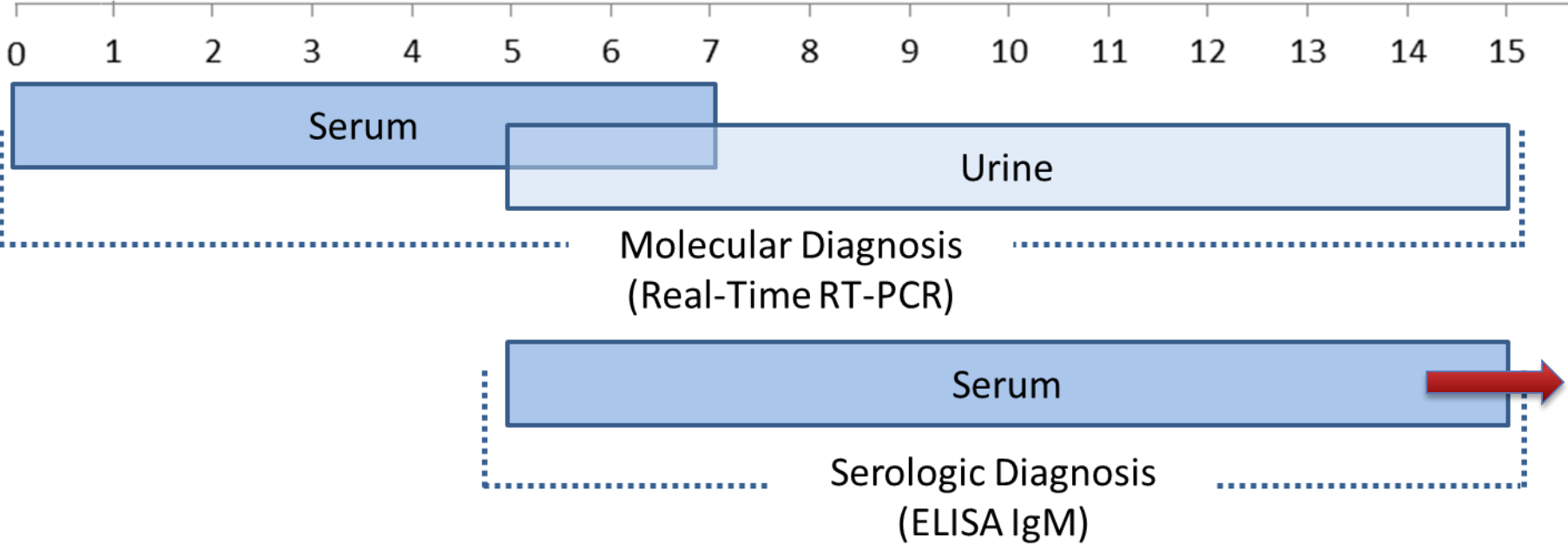
Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

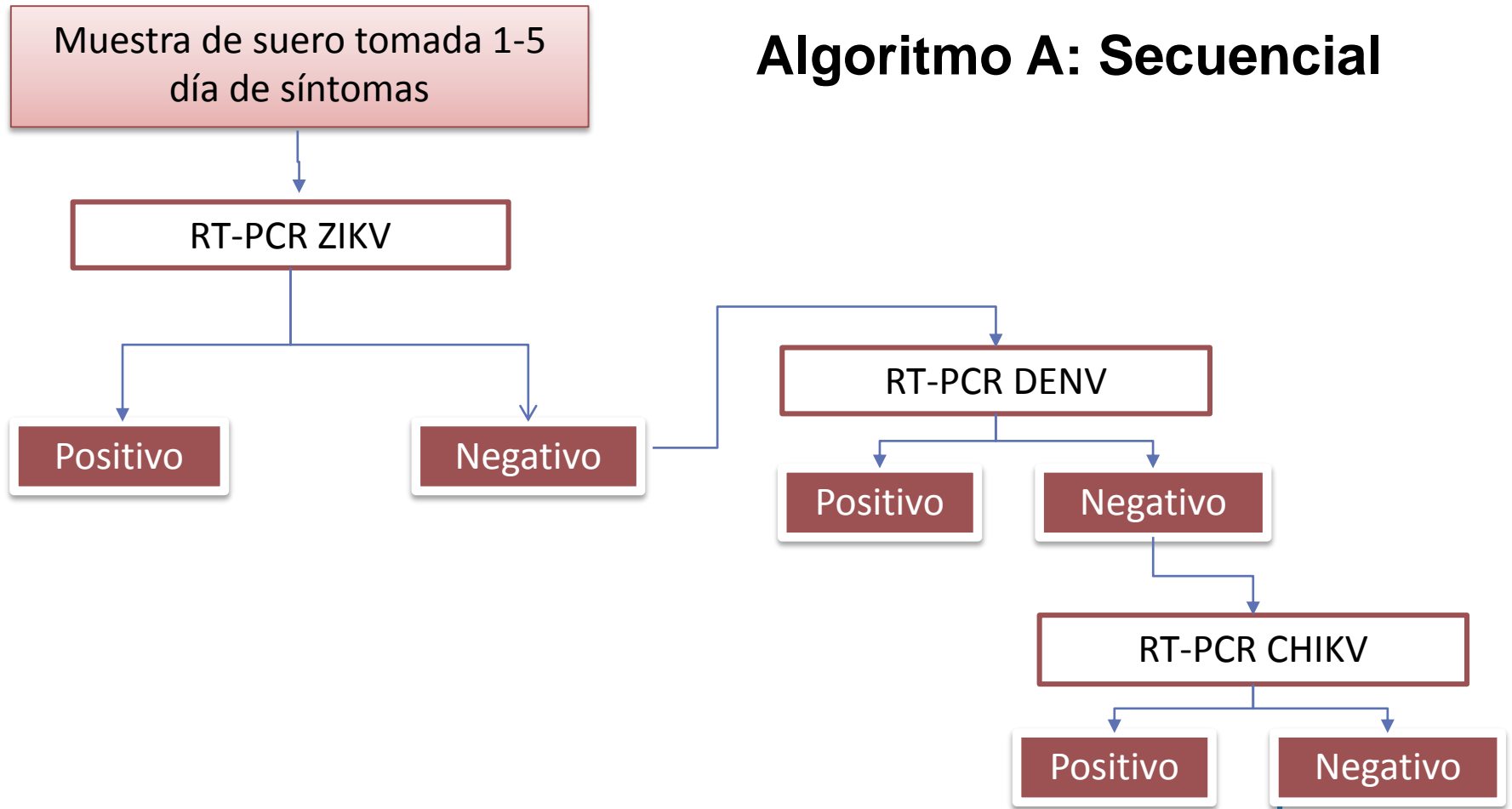
Zika: Diagnóstico

Days of symptoms



Algoritmo para la vigilancia integrada de las arbovirosis

Algoritmo A: Secuencial



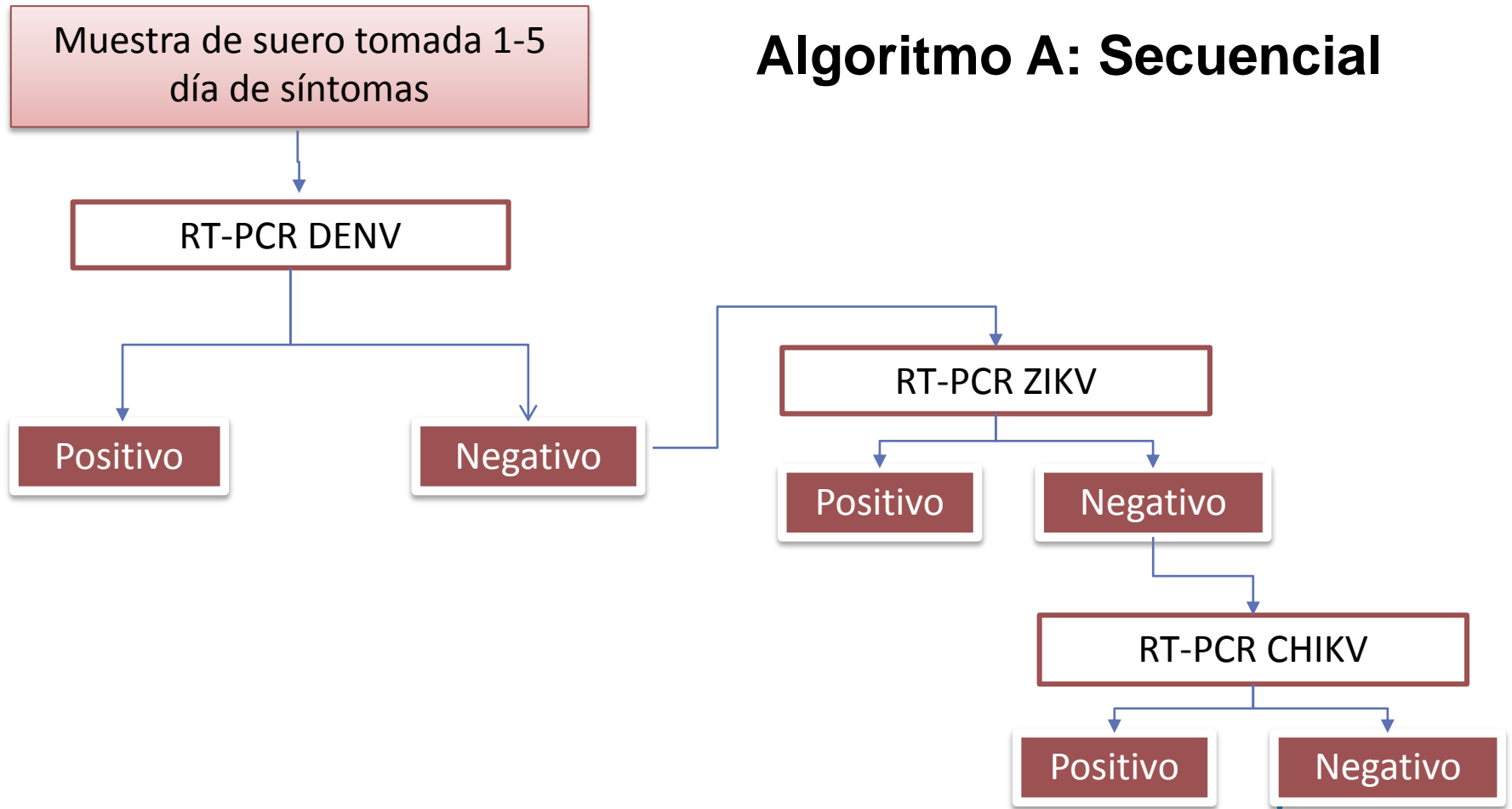
Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Algoritmo para la vigilancia integrada de las arbovirosis

Algoritmo A: Secuencial



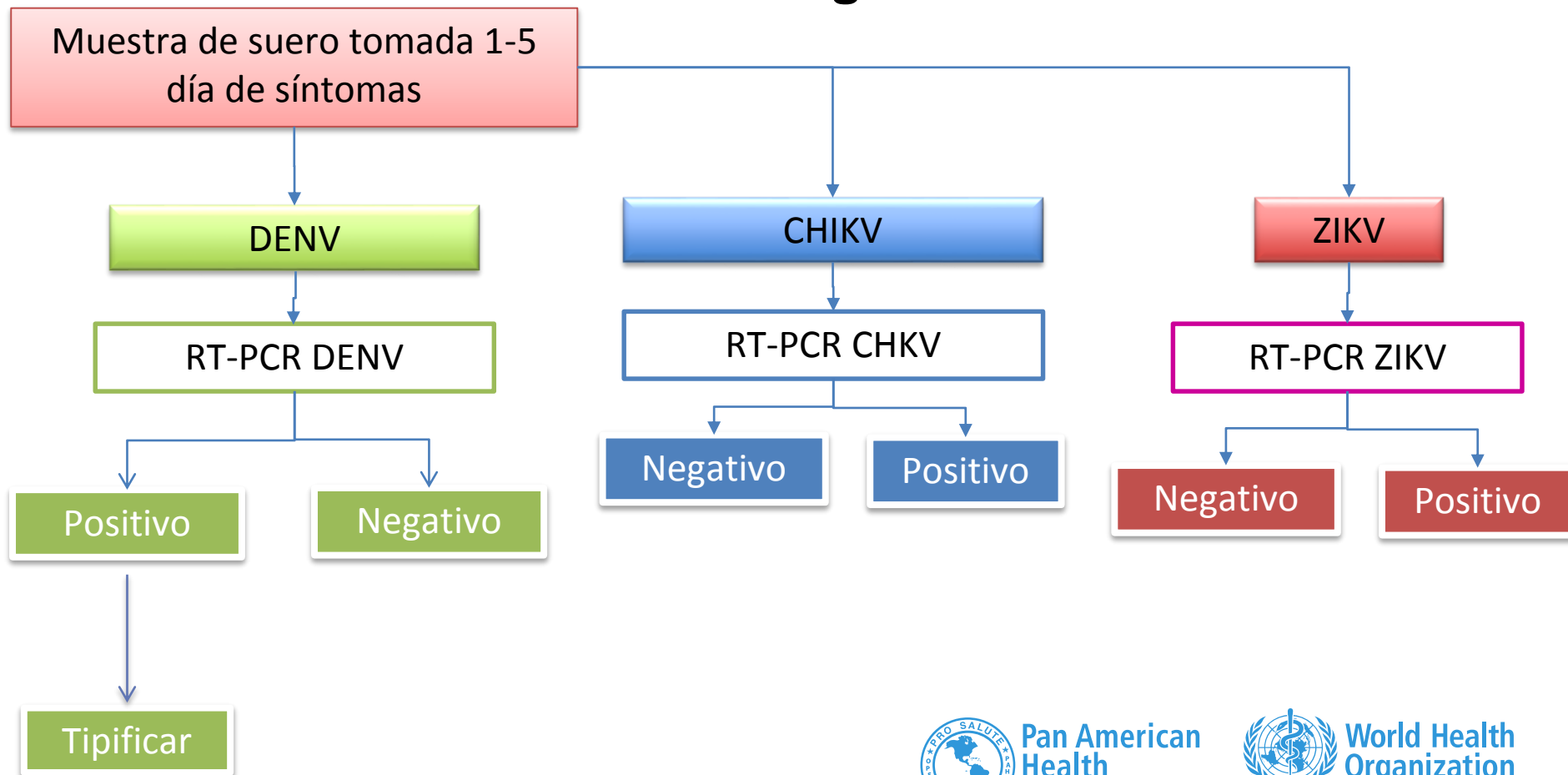
Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Algoritmo para la vigilancia integrada de las arbovirosis

Algoritmo B: Paralelo



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE
Americas

Zika: Diagnóstico molecular

Ensayo multiplex:

Trioplex Real-time RT-PCR Assay

Centers for Disease Control and Prevention

**For use under an Emergency Use
Authorization only**



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Comentarios finales y conclusiones

...



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Comentarios y conclusiones

- Los algoritmos de laboratorio deben estar articulados con la epidemiología para dar respuesta a la vigilancia nacional

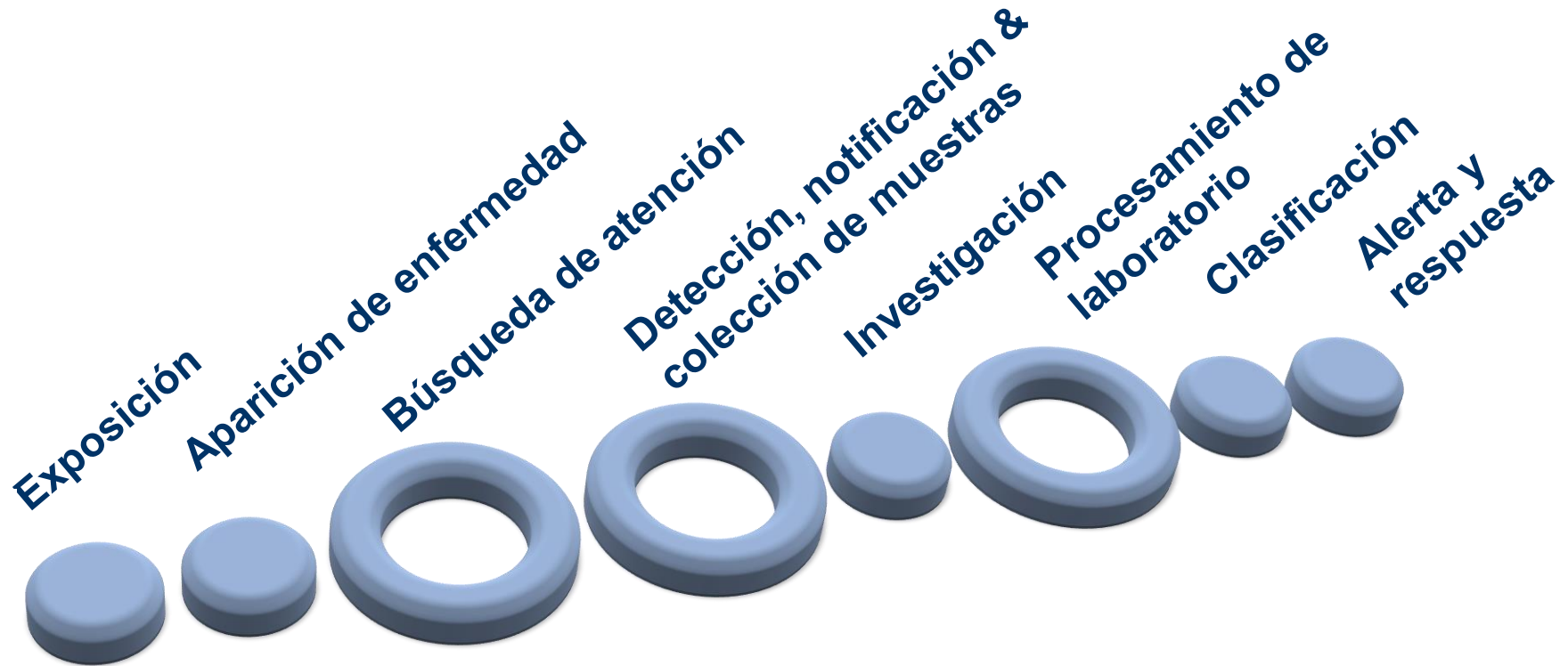


Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Elementos críticos en la vigilancia

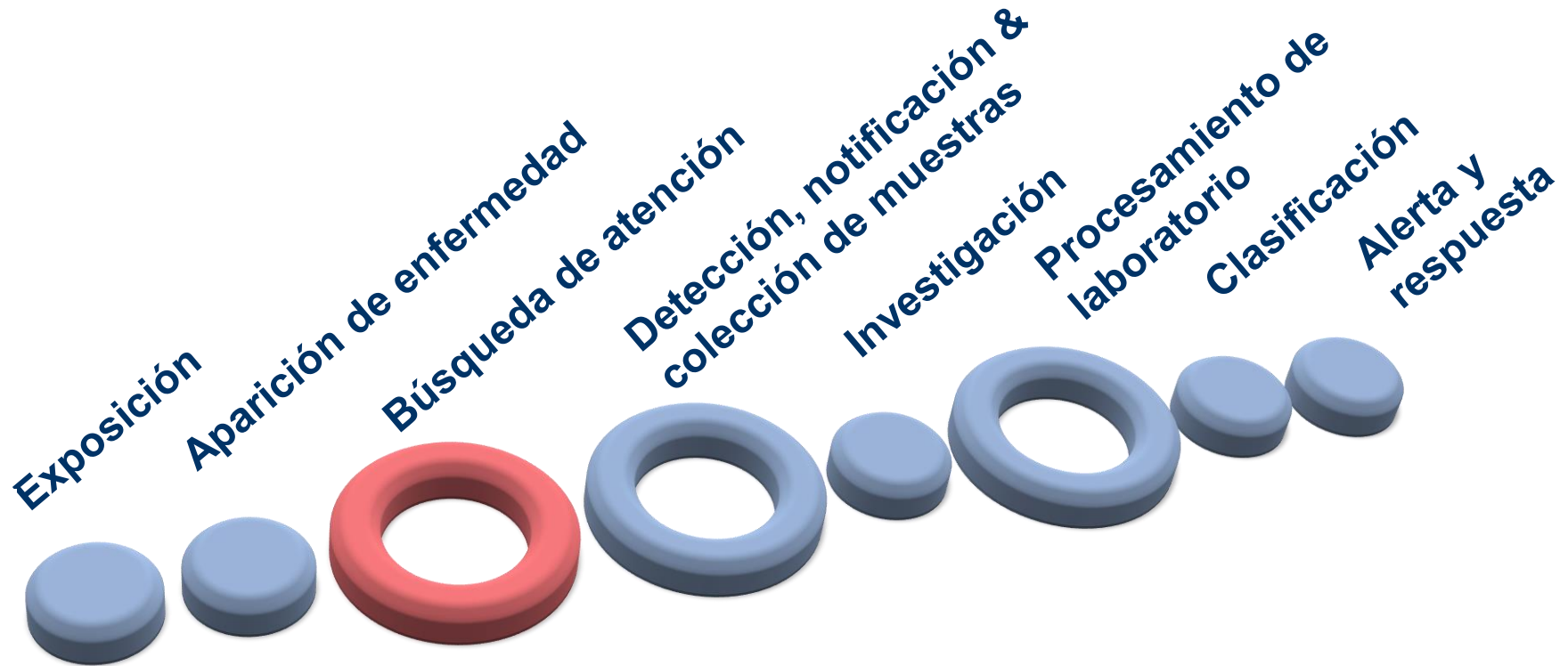


Pan American
Health
Organization



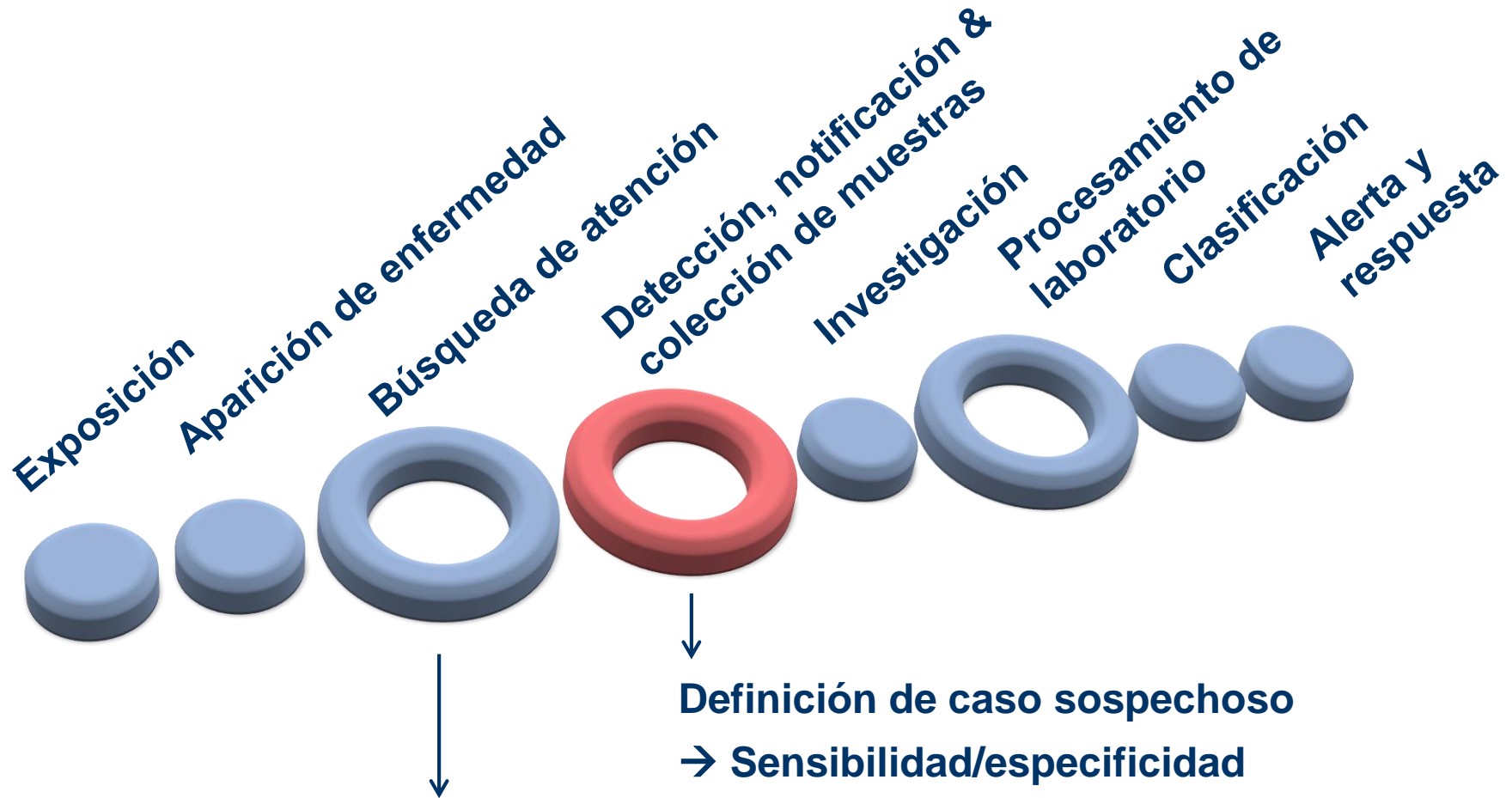
World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Elementos críticos en la vigilancia



Tipo de vigilancia
→ Representatividad

Elementos críticos en la vigilancia



Elementos críticos en la vigilancia



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Comentarios y conclusiones

- Los algoritmos de laboratorio deben estar articulados con la epidemiología para dar respuesta a la vigilancia nacional
- Los algoritmos no son estáticos y deben adecuarse a cada situación epidemiológica



Pan American
Health
Organization

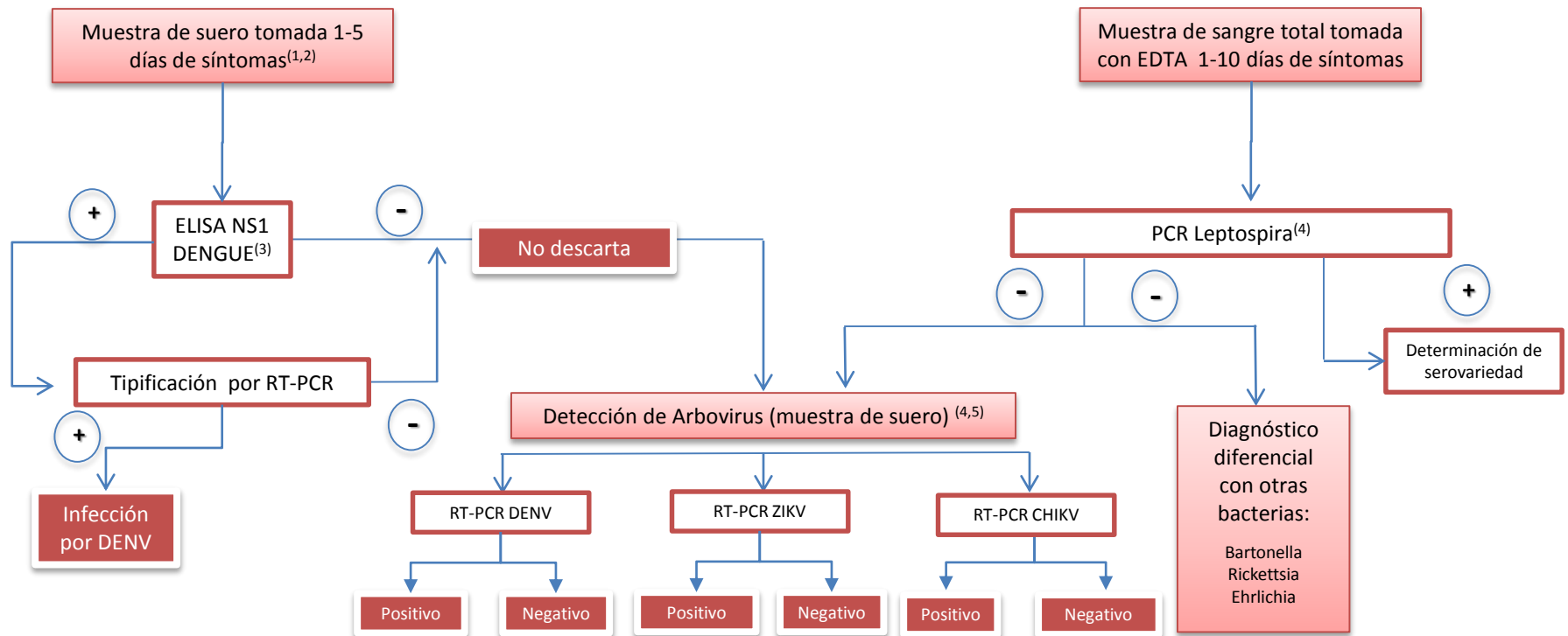


World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Algoritmo para el diagnóstico diferencial de la infección por arbovirus y leptospira en zonas de co-circulación documentada y en áreas de riesgo post-emergencia

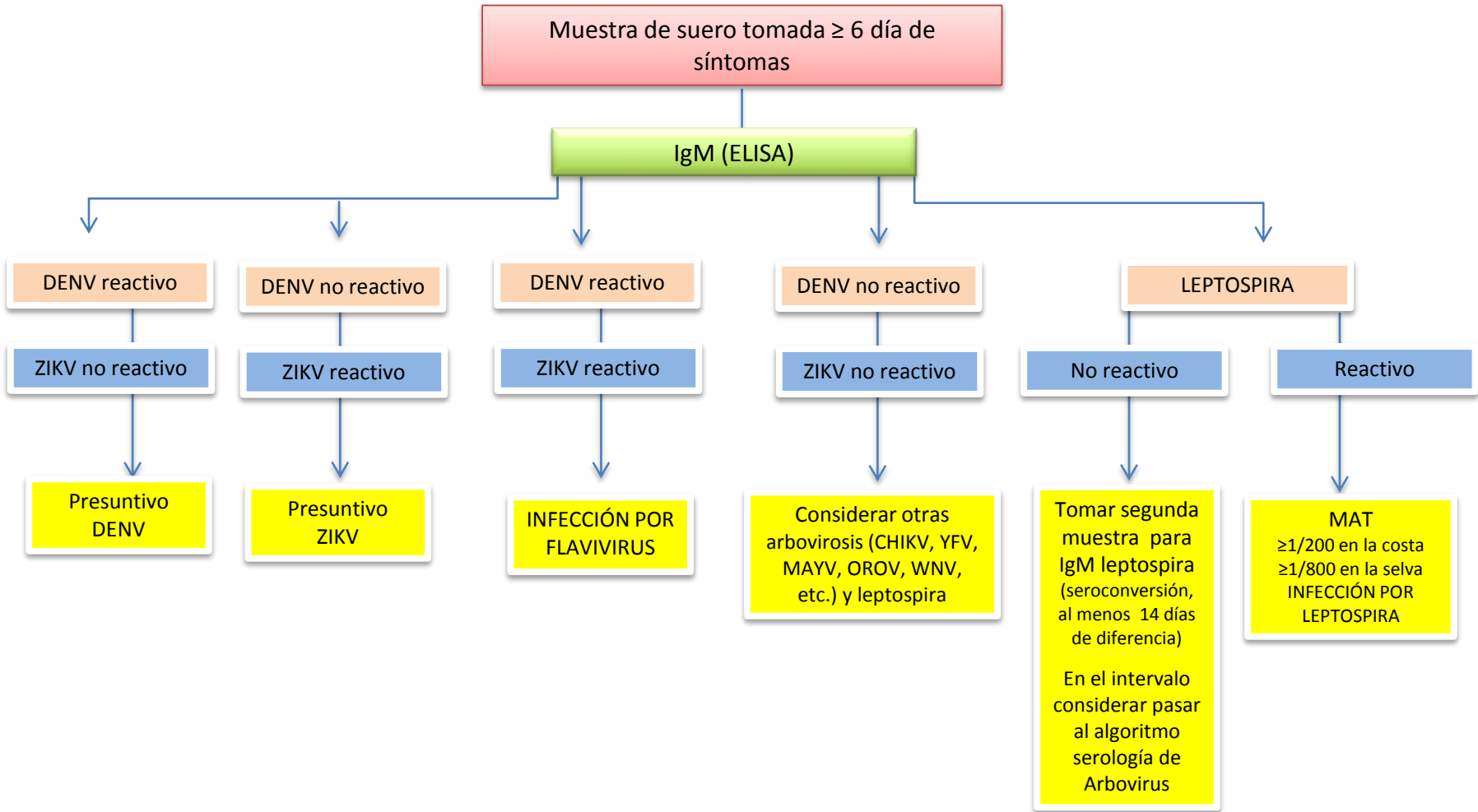
Algoritmo 1: paciente sospechoso en fase virémica o bacteriémica



- (1) Con esta muestra de suero se realizará la primera prueba ELISA IgM para Leptospirosis para detectar eventual seroconversión en una segunda muestra tomada con al menos 14 días de diferencia
- (2) Garantizar un volumen de muestra mínimo de 5ml para obtener 1ml de suero para arbovirus y 1ml de suero para leptospiras
- (3) Se ha demostrado que la sensibilidad puede variar según el serotipo viral (menor para DENV 4)
- (4) La detección molecular puede hacerse de manera secuencial (*singleplex*, empezando por el agente más probable según criterio clínico) o en paralelo (*multiplex*)
- (5) ZIKV puede ser detectado por PCR también en orina desde el día 1 y hasta el día 15 (en promedio) tras el inicio de los síntomas

Algoritmo para el diagnóstico diferencial de la infección por arbovirus y leptospira en zonas de co-circulación documentada y en áreas de riesgo post-emergencia

Algoritmo 2: Diagnóstico serológico



Comentarios y conclusiones

- Los algoritmos de laboratorio deben estar articulados con la epidemiología para dar respuesta a la vigilancia nacional
- Los algoritmos no son estáticos y deben adecuarse al momento epidemiológico
- Se debe fortalecer la detección de otros arbovirus emergentes por medio del diagnóstico diferencial de las muestras **negativas** en laboratorio

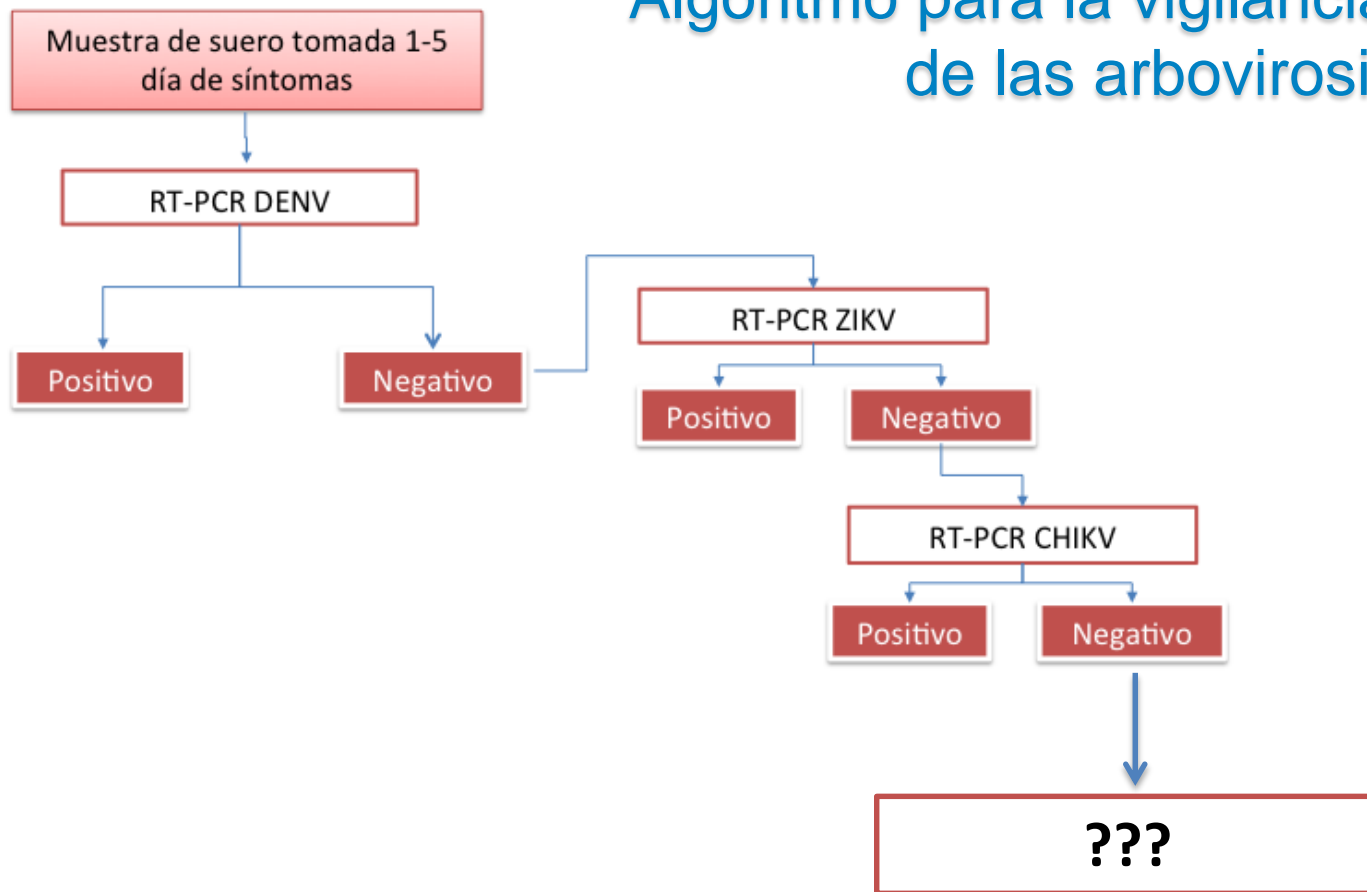


Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Algoritmo para la vigilancia integrada de las arbovirosis



Hasta dónde llegar...?

???



Health Organization



REGIONAL OFFICE FOR THE

World Health Organization
Americas

Comentarios y conclusiones

- Los algoritmos de laboratorio deben estar articulados con la epidemiología para dar respuesta a la vigilancia nacional
- Los algoritmos no son estáticos y deben adecuarse al momento epidemiológico
- Se debe fortalecer la detección de arbovirus emergentes por medio del diagnóstico diferencial de las muestras negativas en laboratorio
- Generar estrategias para hacer mas eficiente la vigilancia y la detección (*protocolos genéricos...?*)

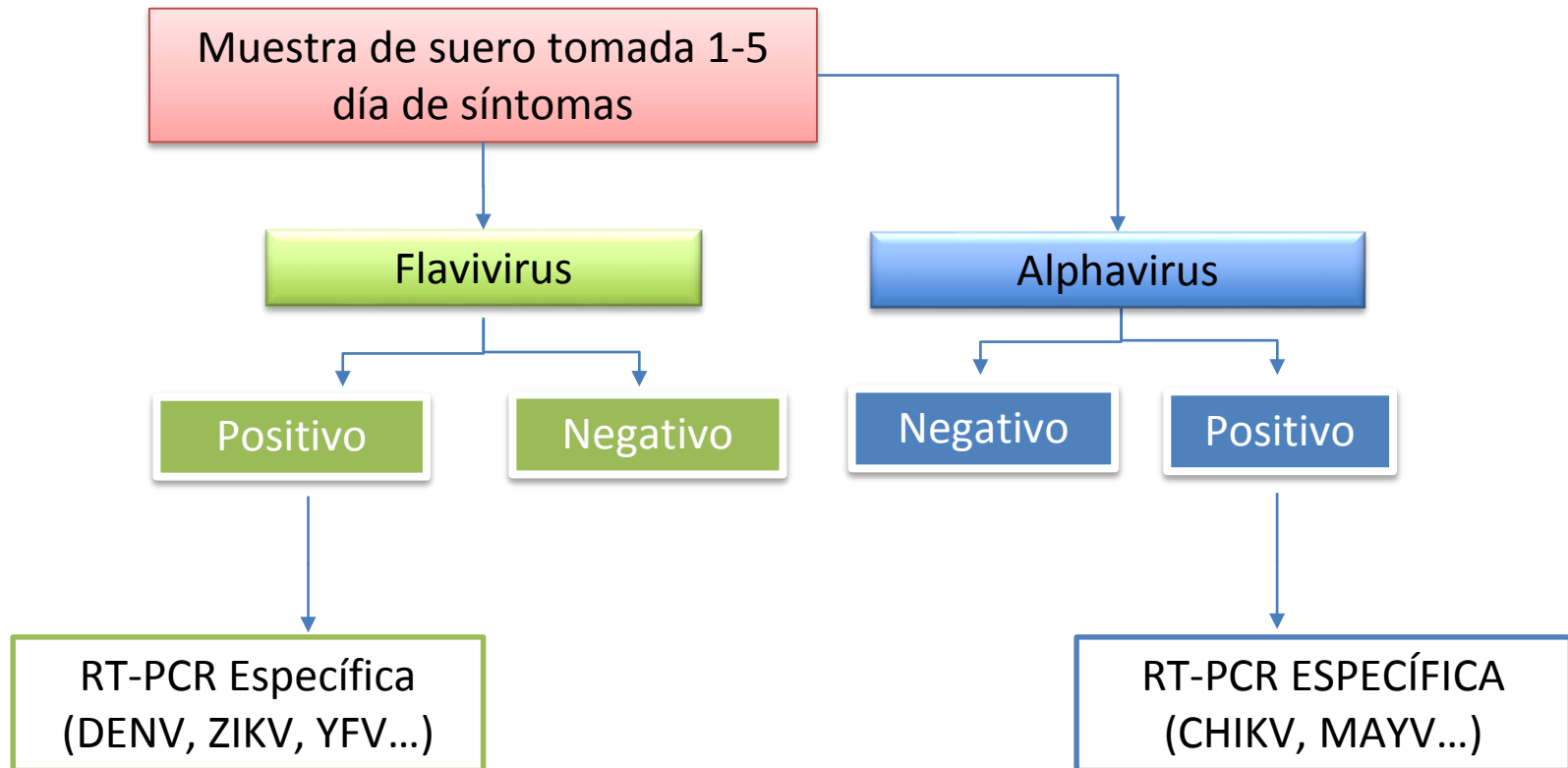


Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Algoritmo para protocolos genéricos



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Algoritmo para protocolos genéricos

Muestra de suero tomada 1-5 día de síntomas

DENV

RT-PCR DENV

Positivo

Negativo

CHIKV

RT-PCR CHKV

Negativo

Positivo

ZIKV

RT-PCR ZIKV

Negativo

Positivo

Genérica Alpha & Flavi para otros virus emergentes



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization
REGIONAL OFFICE FOR THE
Americas

Comentarios y conclusiones

- Los algoritmos de laboratorio deben estar articulados con la epidemiología para dar respuesta a la vigilancia nacional
- Los algoritmos no son estáticos y deben adecuarse al momento epidemiológico
- Se debe fortalecer la detección de arbovirus emergentes por medio del diagnóstico diferencial de las muestras **negativas** en laboratorio
- Generar estrategias para hacer mas eficiente la vigilancia y la detección (protocolos genéricos...?)
- Si bien existen retos para el diagnóstico por laboratorio, la interpretación adecuada debe ser fortalecida

Gracias!

Jairo Méndez-Rico

ricoj@paho.org

OPS/OMS, Washington, DC

Juliana Leite

leitejul@paho.org

Lionel Gresh

greshlio@paho.org

Alessandra Berto

bertoale@paho.org

Mariana Leone

leonemar@paho.org



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas