Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

SOBREDIAGNÓSTICO MICROSCÓPICO DE AMEBIASIS INTESTINAL. RESULTADOS DE UNA ENCUESTA APLICADA A RESPONSABLES DE LABORATORIOS DE LA PROVINCIA DE CIENFUEGOS

María de los Ángeles Fernández Ferrer, Lizet Sánchez Valdez, Humberto Marín Iglesias, Ivón Montano Goodridge, Yury Núñez López y Luis Fonte Galindo 6

RESUMEN: Empleando ENZYMEBA, procedimiento diagnóstico de amebiasis intestinal desarrollado en el Instituto de Medicina Tropical «Pedro Kourí», se demostró que en la provincia Cienfuegos el examen microscópico de heces se asocia a un marcado sobrediagnóstico de esta parasitosis (de 424 muestras positivas a *Entamoeba histolytica* por examen microscópico sólo 61 lo fueron por ENZYMEBA). Para incusionar en los factores que podrían estar incidiendo en la calidad del trabajo de los técnicos de aquella provincia, aplicamos una encuesta al universo de los responsables de laboratorios de ésta. El conjunto de los resultados de la aplicación de este cuestionario (11 preguntas) nos sugiere que en la calidad del diagnóstico de amebiasis intestinal por examen microscópico de heces podrían estar incidiendo deficiencias técnico-organizativas asociadas a otros factores objetivos y subjetivos.

Descriptores DeCS: DISENTERIA AMEBIANA/diagnóstico; HECES/parasitología; TECNICAS Y PROCEDI-MIENTOS DE LABORATORIO/normas; CUESTIONARIO; PERSONAL DE LABORATORIO; PARASITOLOGÍA; CONTROL DE CALIDAD

En el último decenio se acumularon evidencias que han llevado a considerar la *Entamoeba histolytica* como un complejo de 2 especies morfológicamente idénticas, pero con diferente patogenicidad, Entamoeba histolytica, (Schaudinn, 1903) y Entamoeba dispar (Brumpt, 1925). A pesar de ello, la observación microscópica de

¹ Especialista de I Grado en Microbiología. Centro de Investigaciones Medicoquirúrgicas (CIMEQ).

² Licenciada en Matemáticas, Máster en Epidemiología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

³ Especialista de I Grado en Microbiología. Centro Provincial de Higiene y Epidemiología de Cienfuegos.

⁴ Técnico de Laboratorio. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

⁵ Licenciado en Química, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

⁶ Investigador Auxiliar. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

heces continúa siendo la prueba de laboratorio más ampliamente utilizada para el diagnóstico de la amebiasis intestinal.

Este proceder tiene 2 limitaciones adicionales: primero, la excreción intermitente de quistes de *E. histolytica* hace necesario el estudio de al menos 3 muestras fecales en días diferentes con el fin de reducir el número de falsos diagnósticos negativos.² Segundo, la diferenciación de *E. histolytica* de otras células en heces es un proceso tedioso que frecuentemente conduce a falsos diagnósticos positivos.^{3,4}

En 1988, *Luaces y Barret*⁵ describieron una proteasa de *E. histolytica* a la que denominaron histolisina. Posteriormente, *Luaces* et al.⁶ desarrollaron un ensayo inmunoenzimático (ENZYMEBA) para la detección de esta enzima (renombrada histolisaina a partir de este trabajo) en heces. La eficacia de este procedimiento fue probada en un estudio realizado en Mérida, México (comunicación escrita, Comisión de Expertos de la Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México, 1992).

Teniendo en cuenta las ventajas de ENZYMEBA, en especial el hecho de que sus altos índices de sensibilidad y especificidad no dependen de la subjetividad asociada a un observador,6 decidimos demostrar con precisión la presencia del sobrediagnóstico de amebiasis intestinal asociado al examen microscópico de heces en la provincia de Cienfuegos. Al mismo tiempo, y este es el objetivo principal de este trabajo, quisimos incursionar en los factores que podrían estar incidiendo en la calidad del trabajo de los técnicos que realizan el diagnóstico parasitológico por observación microscópica de heces. Para ello, aplicamos una encuesta a los responsables de laboratorios de aquella provincia, sobre aspectos técnico-organizativos relacionados con este tipo de diagnóstico.

Métodos

1. MUESTRAS DE HECES

Durante 5 meses se colectaron en los Hospitales Clinicoquirúrgicos "Gustavo Aldereguía" y Pediátrico "Paquito González" de Cienfuegos y en prácticamente todos los policlínicos (13 de 14) de aquella provincia, muestras fecales en las que habían sido detectados por observación microscópica uno o más estadios de *E. histolytica*. En todos los casos, *E. histolytica* fue identificada en las condiciones en que regularmente se realiza el diagnóstico parasitológico por examen morfológico de heces en dichos centros asistenciales.

Todas las muestras fueron conservadas, congeladas, en las respectivas instituciones en que se realizó el diagnóstico primario. De éstas fueron transportadas, también congeladas, al Centro Provincial de Higiene y Epidemiología de la provincia Cienfuegos y de allí, en iguales condiciones, al Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK).

2. ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO EN FASE SÓLIDA PARA LA DETECCIÓN DE HISTOLISAINA, PROTEASA DE E. HISTOLYTICA (ENZYMEBA)

La prueba ENZYMEBA, en su forma de juego diagnóstico comercial producido en el IPK, fue utilizada siguiendo las instrucciones del productor, basadas en el procedimiento descrito por *Luaces et al.*⁶

3. ENCUESTAS A RESPONSABLES DE LABORATORIOS DE LA PROVINCIA CIENFUEGOS

El cuestionario dirigido a responsables de laboratorios, preparado para ser aplicado al universo de éstos en la provincia Cienfuegos, recogió los datos generales y obtuvo información sobre aspectos técnico y organizativos en relación con la calidad del diagnóstico parasitológico de los técnicos que dirigen. Para la confección de este instrumento, que se aplicó durante el mes de septiembre de 1996, se tuvo en cuenta, además de las intenciones arriba mencionadas, la experiencia acumulada en este tipo de encuestas en el Departamento de Parasitología del IPK y las opiniones de especialistas relacionados con el tema en cuestión.

Una vez confeccionado el cuestionario (11 preguntas), éste fue sometido a criterio de expertos. No se consideró necesaria la preparación de un instructivo para su aplicación porque esta actividad fue realizada directamente por los autores.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de comparación de proporciones para comprobar la existencia o no de diferencia estadísticamente significativa entre la eficiencia del diagnóstico en hospitales y policlínicos.

Empleando el programa EPI-INFO, versión 6.0, se confeccionó una base de datos con toda la información obtenida de la aplicación del cuestionario y se realizó un análisis de frecuencia de las respuestas dadas en las que se utilizó el mismo programa.

Resultados

Se colectaron en los 8 municipios de la provincia Cienfuegos un total de 448 muestras de heces en las que habían sido detectados por examen microscópico 1 o más estadios de *E. histolytica*. Veinticuatro de ellas fueron descartadas por no haber sido

transportadas en condiciones de congelación.

La tabla muestra los resultados del estudio de la eficacia del diagnóstico morfológico en la provincia Cienfuegos. Como puede observarse, de las 424 muestras finalmente incluidas en el estudio, sólo 61 (14,4%) fueron positivas a ENZYMEBA. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la calidad del diagnóstico en los hospitales (18,2% de eficacia) y la de los policlínicos (13,8%) (p > 0,05).

TABLA. Resultados de la aplicación de ENZYMEBA a muestras de heces positivas a E. histolytica por examen microscópico en hospitales y policlínicos de la provincia Cienfuegos.

| | No. de muestras | ENZIMEBA positivas | % |
|----------------------------|--------------------|-----------------------|--------------|
| Hospitales Policlínicos | 55 369 | 10 51 | 18,2 13,8 |
| Totales | 424 | 61 | 14,4 |

Fueron encuestados los 16 responsables de laboratorios previstos, es decir, el universo de jefes de estos servicios en la provincia Cienfuegos. El instrumento aplicado demostró dificultades técnicos organizativas y deficiencias materiales para el desarrollo del diagnóstico parasitológico en los centros asistenciales de la provincia. En este sentido los problemas más notorios fueron los siguientes:

- Sólo 9 (56,6 %) de los encuestados refirieron que en el laboratorio a su cargo el diagnóstico parasitológico era realizado por un técnico que llevaba a cabo esta actividad permanentemente y cuando era realizada de manera rotatoria, en 11 de los casos la frecuencia de rotación fue mensual o mayor.

- En sólo 4 (25 %) de las unidades asistenciales de la provincia, el técnico que hace el diagnóstico parasitológico realiza éste como única actividad.
- La inmensa mayoría de los responsables encuestados (93,3 %) considera que en sus respectivos laboratorios carecen de suficientes materiales técnicos para posibles consultas (manuales, gráficos, esquemas u otros).
- De los encuestados, 11 (68,9 %) y 14 (87,5 %) manifestaron que en sus unidades no se realizan controles de calidad internos y externos, respectivamente.
- En relación con las muestras de referencias necesarias en cada laboratorio en que se realicen diagnósticos parasitológicos, sólo 2 (12,5 %) de los responsables encuestados dijeron poseerlas en sus centros.
- Para el diagnóstico parasitológico por observación microscópica se posee un técnico entrenado que realiza solamente esta función en 4 (25 %) de los centros de salud de la provincia.

Discusión

De las 424 muestras finalmente incluidas en el estudio, sólo 61 (14,4 %) fueron positivas a ENZYMEBA. Este resultado nos demuestra que existe un marcado sobrediagnóstico de amebiasis intestinal en la provincia estudiada. Aunque no con la intencionalidad ni con las herramientas del presente trabajo, un estudio muy reciente demostró que en otra provincia de nuestro país, Ciudad de La Habana, también existe sobrediagnóstico de esta parasitosis. Este problema, que conduce al uso innecesario e yatrógeno de drogas amebicidas, se reporta cada vez con más frecuencia más allá de nuestras fronteras.^{2,3,8}

Para incursionar en los factores posiblemente asociados a este sobrediagnóstico de amebiasis intestinal por examen microscópico de heces, aplicamos a los responsables de laboratorios de la provincia de Cienfuegos un cuestionario sobre aspectos técnico-organizativos relacionados con este tipo de diagnóstico.

El conjunto de los resultados obtenidos de la aplicación de este cuestionario a los responsables de laboratorio de la provincia Cinfuegos nos sugiere que posiblemente en el marcado sobrediagnóstico de amebiasis intestinal demostrado en este trabajo inciden, entre otros factores, deficiencias tecnicoorganizativas y materiales. Una encuesta a los técnicos de laboratorio de aquella provincia, aplicada de manera paralela a este trabajo, reveló algunas de las dificultades aquí descritas (publicación en preparación).

Dada las consecuencias yatrógenas y económicas que el sobrediagnóstico de amebiasis intestinal puede tener y el hecho de que la observación microscópica de heces continuará siendo una herramienta indispensable en el diagnóstico de ésta y otras parasitosis, los autores de este trabajo consideramos que, adecuándose a las características propias de cada centro, se debe actuar sobre los factores objetivos y subjetivos que posibilitan las dificultades evidenciadas por este estudio.

En la Provincia Cienfuegos, como probablemente ocurra en otras zonas del país, el diagnóstico de amebiasis por examen microscópico de heces, se asocia a una proporción significativa de falsos positivos (sólo el 14,4 % de las muestras microscópicamente positivas a este protozoo, lo fueron también a ENZYMEBA, procedimiento de probada certeza diagnóstica).

Como lo comprobaron las encuestas realizadas a responsables de laboratorio, en la eficiencia de los técnicos a cargo del diagnóstico parasitológico inciden dificultades tecnicoorganizativas tales como las que fueron expresadas en el cuerpo de este trabajo.

SUMMARY: Using ENZIMEBA, diagnostic procedure of intestinal amebiasis, developed in the Institute of Tropical Medicine''Pedro Kourí'', it could be shown that in the Cienfuegos Province, the microscopic assay of feces, was associated to a marked superdiagnosis of this parasitosis (out of 424 *Entamoeba histolytica* positive sample by microscopic screenings, only 61 were positive ENZYMEBA samples). In order to know the factors that could be influencing on the quality of work of that province's technicians, we applied a survey to the universe of that province's laboratory personnel. The group of results from this survey (11 questions) suggest us that the quality of the intestinal amebiasis diagnosis, by microscopic screening of feces, could be affected by technical and organizational defficiencis associated to other objective and subjective factors.

Subject headings: DYSENTERY, AMEBIC/ diagnosis; FECES/ parasitology; LABORATORY TECHNIQUES AND PROCEDURES/ standars; QUESTIONNARIES; LABORATORY PERSONNEL; PARASITOLOGY; QUALITY CONTROL.

Referencias Bibliográficas

- Diamond L, Clark GC. A redescription of *Entamoeba histolytica Schaudinn*,1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar Brumpt*, 1925. J Eukaryot Microbiol 1993:40:340-4.
- Bruckner DA. Amebiasis. Clin Microbiol Rev 1992;10:356-69.
- Walsh JA. Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. Rev Infect Dis 1986;8:228-36.
- Anaya-Velázquez FD, Sabanero-López GI. Use of Wrigh's stain to identify *Entamoeba histolytica* trophozoites in feces. Trans R Soc Trop Med Hyg 1989;83:210-1.
- Luaces AL, Barret AJ. Affinity purification and biochemical characterisation of histolysin: the major cystein proteinase of

- Entamoeba histolytica. Biochem J 1988;250:903-9.
- Luaces AL, Pico T, Barret AJ. The ENZYMEBA test: detection of intestinal Entamoeba histolytica infection by inmunoenzimatic detection of histolysain. Parasitology 1992;105:203-5.
- Núñez FA, Ginorio DE, Finlay CM. Control de la calidad del diagnóstico coproparasitológico en la provincia de Ciudad Habana, Cuba. Cad Saúde Pública 1997;13:67-72.
- Matijasevic EA. Amebiasis. Espectro clínico y tratamiento. Trib Med 1995;91:290-304.

Recibido: 7 de mayo de 1998. Aprobado: 30 de septiembre de 1998.

Dra. *María de los Angeles Fernández Ferrer*. Centro de Investigaciones Medicoquirúrgicas (CIMEQ). Calle 216 entre 13 y 15 Reparto Siboney, Ciudad de La Habana, Cuba.