

Nota técnica

Algoritmo para la confirmación por laboratorio de casos de dengue

1.º de diciembre de 2023

El dengue se transmite a través de la picadura de un mosquito infectado con uno de los cuatro serotipos del virus dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4). La infección por el DENV puede afectar a personas de todas las edades, cursando de forma asintomática o producir diversas manifestaciones clínicas que varían entre una fiebre leve a una fiebre incapacitante, acompañado de dolor intenso de cabeza, dolor detrás de los ojos, dolor en músculos y articulaciones, y eritema, e incluso progresar a formas graves, caracterizada principalmente por choque debido a una importante fuga plasmática. No hay medicina específica para tratar el dengue, ni contamos aun con una vacuna recomendada en la Región para ser incorporada en los programas nacionales de inmunizaciones.

En las Américas, el vector principal responsable de la transmisión del dengue es el mosquito *Aedes aegypti* y actualmente cerca de 500 millones de personas en la Región viven en riesgo de contraer el dengue. El número de casos del dengue en las Américas se ha incrementado en las últimas cuatro décadas, pasando de 1.5 millones de casos acumulados en la década del 1980-1989, a 16.2 millones en la década del 2010-2019. Los cuatro serotipos del DENV circulan a lo largo de las Américas y en algunos países circulan simultáneamente. La infección por un serotipo, seguida por otra infección con un serotipo diferente aumenta el riesgo de una persona de desarrollar dengue grave y hasta morir (1).

El diagnóstico inicial de la infección por el DENV es clínico, y una sospecha adecuada puede guiar el protocolo de confirmación. Sin embargo, los resultados de laboratorio deben ser siempre analizados en conjunto con la información demográfica, clínica y según contexto epidemiológico, con fines de vigilancia y no para la toma de decisiones clínicas en el tratamiento del paciente.

La confirmación por laboratorio de la infección por dengue está basada en pruebas virológicas (detección de ARN por RT-PCR, detección de antígeno NS1 por ELISA¹, y en algunos casos aislamiento viral) y pruebas serológicas (detección de IgM y/o IgG por ELISA) (2). Sin embargo, para la confirmación de los casos se debe priorizar los ensayos virológicos que demuestran la presencia del virus completo, de su material genético o de sus proteínas. En general, los ensayos virológicos para dengue se realizan en muestras de suero tomadas durante los primeros 5 días después de iniciados los síntomas (fase aguda), aunque metodologías moleculares altamente sensibles pueden detectar el ARN viral por hasta 7 días dependiendo de la viremia. El aislamiento de los virus se lleva a cabo principalmente en cultivo celular o por inoculación de ratones lactantes y otros roedores. Sin embargo, el aislamiento viral no se usa para el diagnóstico de rutina ni es un requisito para la confirmación del diagnóstico y es útil principalmente para caracterización adicional o producción de reactivos.

Por otro lado, los ensayos serológicos basados en la detección de IgM (o IgG) deben ser analizados con cuidado, teniendo en cuenta el tiempo que circulan los anticuerpos en sangre después de una infección (que puede ser por varios meses para los anticuerpos IgM y años para los anticuerpos IgG), así como la posibilidad de reacción cruzada con otros flavivirus (incluyendo Zika, fiebre amarilla y otros) y detección inespecífica. Así, un único resultado de IgM en un paciente sólo indica un posible contacto reciente con el virus, pero el mismo

¹ La detección de la proteína NS1 mediante la técnica de ELISA no es considerada una prueba rápida. La detección de NS1 por prueba rápida (inmuncromatográfica) no es confirmatoria y se describe a continuación.

puede haber ocurrido hasta 6 meses atrás. Una segunda muestra pareada, tomada con al menos una semana de diferencia, procesada en paralelo con la primera y con un ensayo serológico cuantitativo (PRNT, por ejemplo) que permita demostrar seroconversión o aumento en el título de anticuerpos, puede ser útil para aclarar el diagnóstico. Dado que los anticuerpos IgG son de larga duración, el valor diagnóstico de las mediciones de IgG en una única muestra es limitado. Para confirmar la infección es necesario detectar seroconversión de IgG o un aumento de cuatro veces o más de los títulos de IgG entre la muestra aguda y la muestra convaleciente.

Es importante contar con un algoritmo claro de laboratorio que permita hacer una detección temprana (Figura 1). Si bien las metodologías moleculares múltiples (RT-PCR *multiplex*) son útiles cuando no hay una sospecha clínica clara, ante un caso de dengue que cumple con las definiciones de caso sospechoso establecidas (2) y donde la clínica es compatible, se sugiere priorizar los protocolos para detección específica (*singleplex*) del virus.

En los casos de enfermedad neurológica (por ej., encefalitis u otras encefalopatías) con sospecha de dengue, la detección del ARN viral (por RT-PCR) y de IgM (por ELISA) también se pueden realizar en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Para el ELISA IgM, se recomienda procesar en paralelo las muestras de suero y LCR. La muestra de LCR se estudia pura o poco diluida (dilución máxima de 1:5). La presencia de IgM en el LCR confirma una infección reciente del sistema nervioso central teniendo siempre en cuenta la potencial persistencia de los anticuerpos IgM y la potencial reactividad cruzada entre virus de un mismo género. La muestra de LCR se debe tomar solamente por indicación clínica y no con el solo propósito de identificar el agente etiológico.

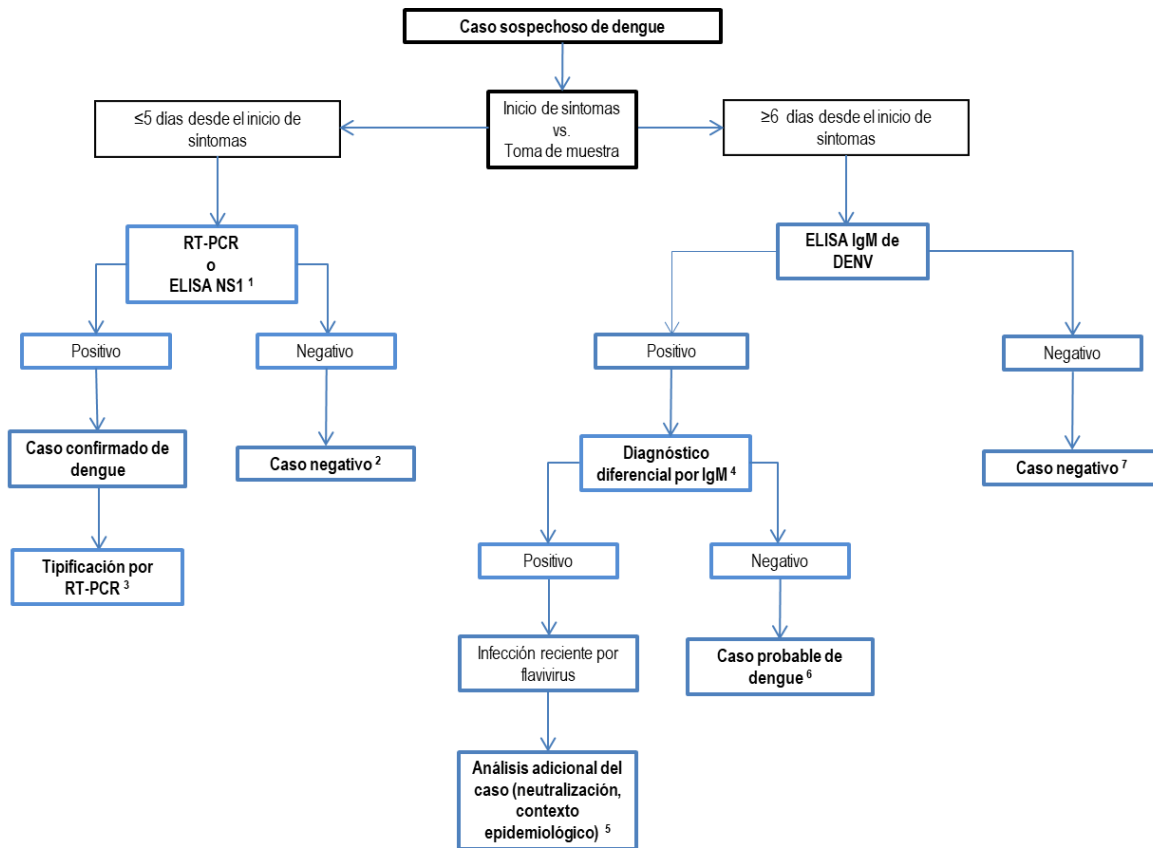
En casos fatales, las muestras de tejido (hígado, riñón, pulmón, ganglio linfático, timo, médula ósea y cerebro) pueden ser consideradas tanto para la detección del material genético (RT-PCR) como para estudio histopatológico e inmunohistoquímica. La toma de biopsias en un paciente con sospecha de dengue con el solo propósito de identificar el agente etiológico está completamente contraindicada.

Por otro lado, no se recomienda el uso de pruebas rápidas (NS1 y/o anticuerpos) ya que por su baja sensibilidad puede llevar a resultados falsos negativos; en caso de ser necesario o no estar disponibles plataformas moleculares o de ELISA (áreas remotas o de difícil acceso, por ejemplo), es importante tener en cuenta que, si bien un resultado positivo para la detección del antígeno NS1 permite confirmar la infección, un resultado negativo no permite descartar el caso. La detección de anticuerpos por pruebas rápidas no es confirmativa y está sujeta a las mismas consideraciones expuestas previamente. Además, se recomienda que las pruebas rápidas utilizadas cuenten con una validación externa (diferente a la que ofrece el fabricante), o al menos una evaluación de desempeño. En donde sea posible y exista disponibilidad, el diagnóstico molecular y la detección de antígenos por ELISA debe ser priorizado.

Dado que los servicios de laboratorio son un componente clave de la vigilancia epidemiológica y virológica del dengue, se debe mantener la detección y caracterización oportuna en muestras apropiadas. En lo posible y según las capacidades de cada laboratorio, se recomienda la toma y procesamiento de todos los casos de dengue grave y con signos de alarma, mientras que solo una proporción (10-30 % o un número limitado de muestras según la capacidad) de aquellos casos sin signos de alarma será necesario para la vigilancia.

Referencias

1. Organización Panamericana de la Salud. Temas: Dengue. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/dengue>
2. Organización Panamericana de la Salud. Recomendaciones para la detección y el diagnóstico por laboratorio de infecciones por arbovirus en la Región de las Américas. Washington, D.C.; 2022. Disponible en: <https://doi.org/10.37774/9789275325872>.
3. Organización Panamericana de la Salud. Dengue: guías para la atención de enfermos en la Región de las Américas. 2ª ed. Washington, D.C.; 2016. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/28232>



- ¹ La RT-PCR es la técnica recomendada durante la fase aguda de la enfermedad y su sensibilidad permite detectar el ARN viral incluso por más de 5 días desde el inicio de síntomas. Si la RT-PCR no está disponible, se puede considerar la detección del antígeno NS1 por ELISA teniendo en cuenta que su sensibilidad es más baja que la RT-PCR.
- ² En general, se observa un descenso de la viremia con el tiempo transcurrido a partir del inicio de los síntomas, lo que puede afectar la sensibilidad de la detección molecular (RT-PCR) y antigénica (ELISA NS1), en particular en las muestras tomadas después del quinto día desde el inicio de síntomas. En estos casos se puede considerar la detección serológica.
- ³ Este paso se requiere solamente para casos confirmados con ELISA NS1 o un ensayo de RT-PCR que no diferencia los serotipos del virus.
- ⁴ Considerar el virus del Zika, la vacunación reciente para fiebre amarilla, así como otros flavivirus dependiendo de la situación epidemiológica de la zona / país.
- ⁵ En los casos de reactividad cruzada, los resultados de ELISA IgM no permiten confirmar el agente etiológico. Sin embargo, este resultado no descarta la infección por dengue. Deben usarse criterios clínicos y epidemiológicos adicionales para la interpretación final del caso. También se puede considerar realizar PRNT en un laboratorio de referencia para analizar las muestras con reactividad cruzada (idealmente, en muestras agudas y convalescentes pareadas).
- ⁶ Un resultado positivo por IgM en una muestra única no es confirmatorio y puede deberse a una infección por dengue en los últimos meses. La seroconversión en muestras pareadas con al menos una semana de diferencia permite inferir la infección por dengue, siempre y cuando no se observe reactividad cruzada con otro(s) flavivirus.
- ⁷ Los niveles de IgM pueden estar por debajo de los límites de detección en algunas infecciones secundarias. Investigar los casos y realizar el diagnóstico diferencial.

Figura 1. Algoritmo para confirmación por laboratorio de casos de dengue