

Muestras

EL CONTROL DE LAS
ENFERMEDADES
TRANSMISIBLES

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

Muestre

EL CONTROL DE LAS
ENFERMEDADES
TRANSMISIBLES
PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

Editores

Dr. Burton W. Wilcke, Jr.

Dr. David L. Heymann

 **APHA PRESS**
AN IMPRINT OF AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION

OPS
 Organización Panamericana de la Salud  Organización Mundial de la Salud
Américas



DENGUE

(Fiebre del dengue, fiebre del dengue hemorrágico y síndrome de choque por dengue, dengue grave)

ENFERMEDAD	CÓDIGO CIE-10
DENGUE	CIE-10 A90
DENGUE HEMORRÁGICO	CIE-10 A91

1. Características clínicas. El dengue es una enfermedad febril aguda, de intensidad leve a moderada, que por lo general evoluciona en tres fases: febril, crítica y de convalecencia. Los pacientes con dengue suelen presentar un comienzo repentino con fiebre que dura entre dos y siete días y puede ser bifásica. Otros signos y síntomas son cefalea intensa,

mialgias, artralgias, dolor óseo, dolor retroorbitario, anorexia, vómito, erupción cutánea macular o maculopapulosa y manifestaciones hemorrágicas menores como petequias, equimosis, púrpura, epistaxis, hemorragias gingivales, hematuria o prueba del torniquete positiva. Algunos pacientes presentan eritema bucofaríngeo y facial en las primeras 24 a 48 horas después del inicio de los síntomas. Los signos de alarma que indican progresión hacia un dengue grave ocurren hacia el final de la fase febril, alrededor de la defervescencia, y consisten en vómitos persistentes, dolor abdominal intenso, hemorragia de las mucosas, dificultad para respirar, signos de choque hipovolémico y disminución rápida del número de plaquetas, con un aumento del hematocrito (hemoconcentración).

La fase crítica del dengue empieza en el momento de la defervescencia y suele durar de 24 a 48 horas. La mayoría de los pacientes presenta mejoría clínica durante esta fase, pero los que sufren una fuga importante de plasma, como consecuencia de un aumento considerable de la permeabilidad vascular, evolucionan hacia el dengue grave. En un principio, se mantiene una circulación adecuada mediante mecanismos fisiológicos compensatorios, que disminuyen la presión del pulso al tiempo que aumentan la presión arterial diastólica. En apariencia, los pacientes pueden verse bien, a pesar de los signos incipientes de choque. Sin embargo, una vez que se instala la hipotensión, la presión arterial sistólica baja rápidamente y pueden sobrevenir el choque irreversible y la muerte pese a la reanimación. Los pacientes con extravasación intensa de plasma presentan derrame pleural o ascitis, hipoproteinemia y hemoconcentración. También puede haber manifestaciones hemorrágicas como hemorragia profusa evidente, hematemesis, rectorragia, melena o menorragia, en particular si el estado de choque es prolongado. En los casos graves de dengue el cuadro clínico también puede consistir en hepatitis, miocarditis, pancreatitis y encefalitis.

La fase de convalecencia empieza cuando la pérdida de plasma cede, se reabsorben los líquidos extravasados (intravenoso, pleural, abdominal), se estabiliza el estado hemodinámico y se restablece la diuresis. El hematocrito se estabiliza o puede disminuir debido al efecto de dilución del líquido reabsorbido y, por lo general, la cifra de leucocitos comienza a aumentar, seguida de una recuperación lenta del número de plaquetas. Puede presentarse una erupción cutánea eritematosa generalizada, con zonas circulares de piel no eritematosa. Esta erupción cutánea de la fase de convalecencia puede descamar y ser pruriginosa.

Los resultados de laboratorio frecuentes son leucopenia, trombocitopenia, hiponatremia, aumento de la aspartato-aminotransferasa y la alanina-aminotransferasa y una velocidad de sedimentación globular normal. Algunos pacientes pueden tener un tiempo de tromboplastina parcial prolongado y una concentración de fibrinógeno baja (con tiempo de protrombina normal).

El diagnóstico diferencial se hace con chikunguña y otras enfermedades de importancia epidemiológica mencionadas en la sección “Enfermedades debidas a arbovirus”; gripe; sarampión; rubéola; malaria; leptospirosis; melioidosis, fiebre tifoidea; tifus de las malezas; y otras enfermedades febriles generalizadas, en especial las que cursan con erupción cutánea.

El dengue hemorrágico y el síndrome de choque por dengue ahora se clasifican como subconjuntos del dengue grave, según las directrices de la OMS del 2009. El reconocimiento oportuno de los pacientes con dengue que presentan signos de alarma es fundamental para brindar una orientación preventiva e iniciar el tratamiento de apoyo. El dengue grave puede presentarse tanto en niños como en adultos.

2. Agentes causales. Los virus del dengue (DENV) son flavivirus y comprenden cuatro serotipos, a saber, DENV 1, DENV 2, DENV 3 y DENV 4. Los cuatro serotipos pueden causar dengue y todos se han relacionado con cuadros de dengue grave como el dengue hemorrágico y el síndrome de choque por dengue con desenlace mortal. Cabe anotar que la mayoría de las infecciones por estos virus (75%) es asintomática tanto en los niños como en los adultos. La infección por cada serotipo genera inmunidad protectora prolongada, específica del serotipo respectivo, pero no se produce inmunidad cruzada a largo plazo. Un riesgo mayor de dengue grave se ha asociado con la presencia de anticuerpos heterotípicos y también con cepas de mayor virulencia o potencial epidémico. A su vez, los serotipos de DENV pueden clasificarse en genotipos, que se basan en diferencias en la secuencia de los genes de la envoltura del virus; los estudios epidemiológicos moleculares pueden contribuir al seguimiento de las modalidades de transmisión de la enfermedad.

3. Diagnóstico de laboratorio. El diagnóstico clínico de dengue puede confirmarse en el laboratorio con una sola muestra de suero obtenida durante la fase febril de la enfermedad (desde el día de aparición de la fiebre hasta siete días después), con el fin de detectar el virus y anticuerpos dirigidos contra el mismo, de tipo inmunoglobulina de clase M (IgM). La viremia está presente durante cinco o seis días antes y después de la aparición de la fiebre. Los medios de diagnóstico molecular por amplificación de ácidos nucleicos como la reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa (RT-PCR) detectan el ácido ribonucleico (ARN) de los virus del dengue con mayor sensibilidad que el aislamiento del virus mediante cultivo celular, y la RT-PCR múltiple proporciona resultados específicos de serotipo. Ya se cuenta con medios de diagnóstico molecular en muchas regiones donde el dengue es endémico. Los DENV también se pueden detectar mediante un inmunoensayo que pone en evidencia el antígeno de la proteína no estructural NS1 del virus, que es un antígeno soluble presente durante el período de viremia. Si bien este método es un poco menos sensible que la detección mediante RT-PCR, en muchas zonas con dengue endémico ya hay pruebas comerciales que detectan

el antígeno NS1. La detección de anticuerpos IgM en la fase febril puede indicar una infección actual o reciente por virus del dengue o, en algunos entornos, una infección por otro flavivirus, debido a la reactividad cruzada de los anticuerpos. La IgM se puede detectar en cerca de 30% de los pacientes con dengue al tercer día después de la aparición de la fiebre, y en casi todos los pacientes entre seis y siete días después del inicio de la fiebre. En muchos lugares ya están disponibles las pruebas de captura de IgM dirigida contra los virus del dengue mediante enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA) y los estudios de evaluación han reconocido pruebas comerciales en microplacas con una sensibilidad y especificidad altas y poca reactividad cruzada con otros flavivirus.

Las pruebas de IgG contra los virus del dengue no son útiles en el diagnóstico, ya que una gran proporción de personas en las zonas endémicas tiene anticuerpos IgG con reactividad cruzada, derivados de infecciones anteriores (infección secundaria por virus del dengue).

4. Capacidad de laboratorio. Las pruebas diagnósticas del dengue requieren diferentes capacidades de laboratorio. Las pruebas de inmunocromatografía del antígeno NS1 se pueden usar como pruebas en el punto de atención, a la cabecera del paciente. Contienen un control de flujo de muestras que ayuda a garantizar que la tira reactiva se utilice de manera correcta y que pueda utilizarla personal no calificado, fuera del ámbito del laboratorio. Sin embargo, estas pruebas de diagnóstico rápido tienden a presentar sensibilidad y especificidad más bajas que los ensayos que solo se pueden realizar en un laboratorio.

Los enzimoimmunoanálisis de adsorción para anticuerpos contra el dengue o el antígeno NS1 y los ensayos de RT-PCR en tiempo real para el ARN del dengue, requieren un laboratorio funcional con personal capacitado y procesos sólidos de garantía de la calidad. En la mayoría de los países, la RT-PCR en tiempo real solo se realiza en centros especializados con acceso a un laboratorio operativo de biología molecular. Para definir el serotipo del dengue se puede utilizar una variedad de métodos moleculares como la RT-PCR y la secuenciación, pero dado que esta información solo es necesaria con fines epidemiológicos y de investigación, rara vez se realiza la tipificación fuera de los laboratorios nacionales de referencia. Sin embargo, es primordial mantener esta capacidad en las zonas endémicas con el fin de facilitar la detección rápida de brotes epidémicos causados por serotipos nuevos del dengue.

5. Requisitos de seguridad. En Estados Unidos y Canadá, el virus del dengue se clasifica como un microorganismo del grupo de riesgo 2, debido a su capacidad de causar enfermedades en el ser humano, mitigado por el hecho de que es poco probable que represente un riesgo grave para los trabajadores de laboratorio o la comunidad en general. La manipulación del virus del dengue se debe llevar a cabo en un laboratorio con condiciones de contención de bioseguridad de nivel 2, por personal

capacitado en el trabajo con microorganismos patógenos infecciosos. Los procedimientos que generan aerosoles o salpicaduras se deben realizar en una cámara de bioseguridad. El cultivo del virus del dengue debe realizarse en una instalación con condiciones de contención de bioseguridad de nivel 3 (BSL 3), debido a la posibilidad de producir cantidades grandes de virus.

Cabe anotar que las directrices europeas clasifican el dengue como un microorganismo del grupo 3 de riesgo o peligro, dado que puede causar enfermedades graves y, por lo tanto, implica un peligro potencial importante para los empleados. Sin embargo, la evaluación local de riesgos puede autorizar la realización del trabajo de diagnóstico inicial en muestras primarias que potencialmente contienen el virus del dengue en un laboratorio con condiciones de contención de bioseguridad de nivel 2.

6. Huéspedes no humanos. No se han reconocido huéspedes animales.

7. Requisitos de las muestras y especímenes. Una muestra de suero reciente es la más adecuada para realizar el análisis serológico del dengue. Tanto el suero como el plasma son adecuados para el diagnóstico molecular. En ocasiones, se pueden analizar otros tipos de muestras para ensayos moleculares, por ejemplo, muestras de piezas de cadáveres, siempre y cuando el ensayo utilizado haya sido validado para el tipo de muestra en cuestión.

El momento en que se obtienen las muestras es importante. El formulario que se adjunta a la muestra debe contener detalles pertinentes, incluida la fecha de inicio de los síntomas y de obtención de las muestras, además de los síntomas clínicos y los antecedentes destacados de viaje con fechas. Esta información permite una interpretación precisa de los resultados.

Las muestras destinadas a las pruebas diagnósticas del virus del dengue se transportan como sustancias infecciosas de categoría B. El recipiente primario debe estar rodeado de material absorbente dentro de un recipiente secundario a prueba de fugas, el cual debe estar contenido en el envase externo debidamente rotulado. El personal debe estar capacitado y certificado en materia de requisitos nacionales de empaquetado y envío. Si se va a intentar el cultivo del virus, es importante mantener las muestras de sangre refrigeradas o congeladas a -20°C con el fin de preservar la viabilidad del virus durante todo el transporte desde el paciente hasta el laboratorio. Sin embargo, para las pruebas de diagnóstico corriente, las muestras se suelen transportar al laboratorio a temperatura ambiente.

8. Análisis necesarios. En los pacientes hospitalizados, es primordial hacer un diagnóstico correcto del dengue para optimizar la atención médica y, en zonas donde el mosquito vector está presente, para respaldar

las actividades de control de la enfermedad. Otras infecciones virales como el chikunguña y la enfermedad por el virus de Zika pueden causar un cuadro clínico semejante y, como la distribución mundial de estos virus se superpone en muchas zonas, es prudente realizar pruebas que detecten las tres enfermedades en los pacientes con una exposición geográfica relevante.

El virus se detecta de manera directa mediante RT-PCR o detección del antígeno viral, y ambos métodos confirman un diagnóstico de dengue agudo, pero no pueden diferenciar entre episodios primarios y secundarios de dengue. La RT-PCR en tiempo real es sumamente sensible en los primeros cuatro a cinco días de la enfermedad con valores de sensibilidad y especificidad diagnóstica que suelen ser superiores a 98%. El límite de detección en estos ensayos suele ser alrededor de 10^3 unidades formadoras de placa/ml.¹ Por lo tanto, es el método óptimo de diagnóstico temprano y los resultados se pueden obtener en un plazo de seis horas. En las zonas donde son endémicos otros arbovirus como el virus de Zika y el chikunguña, es valioso realizar múltiples PCR para diferenciar estas infecciones. Los métodos de RT-PCR también se pueden utilizar con el fin de diferenciar los diversos serotipos, lo cual es útil en las investigaciones epidemiológicas. Sin embargo, la RT-PCR es costosa, requiere un laboratorio molecular plenamente funcional con controles de garantía de la calidad y personal de laboratorio con experiencia considerable.

Las pruebas basadas en antígenos virales más utilizadas reconocen el antígeno NS1, que es detectable durante los primeros cinco a seis días de la enfermedad clínica. La sensibilidad del ELISA para NS1 oscila entre 45% y 57% con una especificidad de 93% a 100%.² Las pruebas de inmunocromatografía rápida son más sencillas de realizar y producen resultados en menos de una hora, pero es probable que su sensibilidad y especificidad sean inferiores.

Las pruebas serológicas más utilizadas son los ELISA de IgG e IgM, aunque también están disponibles pruebas comerciales de inmunocromatografía rápida. En la infección primaria por el virus del dengue (es decir, en una persona sin antecedente de infección por flavivirus ni vacunación contra la infección), la IgM se vuelve positiva alrededor del cuarto día de la enfermedad clínica y permanece positiva hasta noventa días. La IgG contra el dengue se vuelve positiva alrededor del séptimo día de la enfermedad clínica y permanece positiva durante muchos meses y probablemente de por vida; sin embargo, en una persona con una segunda infección por dengue, la IgM del dengue puede no ser detectable, pero la IgG del dengue alcanza valores altos muy rápido. Al igual que con todos los flavivirus, existe una considerable reactividad serológica cruzada; por lo tanto, de ordinario las pruebas positivas de anticuerpos contra el dengue, por sí solas, solo confirmarían un diagnóstico de infección reciente, si puede excluirse serológicamente la exposición reciente a otros antígenos de flavivirus (incluida la vacuna contra la fiebre amarilla y la infección

por el virus de Zika). Los enzimoimmunoanálisis de adsorción son de bajo costo, relativamente sencillos de realizar y se prestan a la automatización para lograr un alto rendimiento.

Los ensayos neutralizantes como la prueba de neutralización por reducción del número de placas se pueden utilizar cuando se requiere un diagnóstico serológico específico del serotipo. Sin embargo, estos ensayos son difíciles de normalizar y exigen una infraestructura técnica y experiencia considerables. Por lo tanto, no se prestan al uso diagnóstico corriente.

El aislamiento del virus en cultivo celular suele tardar varios días y solo se puede realizar en laboratorios con la infraestructura y la experiencia técnica necesarias. Por lo tanto, esta técnica también se utiliza sobre todo en la investigación y no en el diagnóstico.

Se cuenta con sistemas externos de garantía de la calidad para la RT-PCR, la detección de antígenos y la serología.

Las pruebas de RT-PCR o del antígeno NS1 se recomiendan en especial durante los primeros cinco días de la enfermedad. En los pacientes que acuden después del quinto día de la enfermedad, se deben realizar pruebas serológicas, de preferencia con una muestra tomada durante la fase de convalecencia, catorce días después del inicio de los síntomas. Con frecuencia, los diagnósticos del dengue solo están disponibles en laboratorios de referencia regionales o nacionales. Los laboratorios locales deben tener procedimientos normalizados de trabajo y protocolos para la remisión de muestras a estos laboratorios.

9. Requisitos de notificación. El dengue es una enfermedad de notificación obligatoria a nivel nacional en Estados Unidos. Los casos clínicos se deben notificar a los CDC según las definiciones de caso del Consejo de Epidemiólogos Estatales y Territoriales de Estados Unidos. Los departamentos de salud estatales deben notificar los casos confirmados por el laboratorio al Sistema Nacional de Vigilancia de Enfermedades debidas a Arbovirus.

La OMS recoge los datos de los Estados Miembros, incluido el número de casos presuntos y confirmados de dengue, el número de muertes por dengue y el serotipo en circulación. El organismo nacional responsable debe notificar a la OMS los cambios en la actividad del dengue, como un caso de dengue adquirido localmente en una zona que estaba libre de la enfermedad.

10. Redes de referencia. Con frecuencia las pruebas diagnósticas del dengue solo están disponibles en los laboratorios de referencia regionales o nacionales. Los laboratorios locales deben tener procedimientos normalizados de trabajo y protocolos para la remisión de muestras a los de referencia, y contar con recursos para acceder con urgencia a los métodos diagnósticos de la enfermedad.

11. Consideraciones especiales. Las definiciones de caso están disponibles en el sitio web de los CDC: <https://ndc.services.cdc.gov/case-definitions/dengue-virus-infections-2015/#:~:text=Dengue%20is%20defined%20by%20fever,join%20pain%2C%20myalgia%2C%>.

En el sitio web de los CDC se puede consultar una guía exhaustiva de laboratorio complementaria: <https://www.cdc.gov/dengue/es/healthcare-providers/testing/index.html>.

Ante la ausencia de una vacuna de gran eficacia para protegerse contra el dengue, las personas que residen o viajan a zonas endémicas deben evitar la exposición al *Aedes (Stegomyia) aegypti* mediante el uso de un repelente de mosquitos eficaz como la N,N-dietil-meta-toluamida y la reducción de la superficie de piel expuesta durante el día. Las autoridades en las zonas endémicas pueden reducir el nivel de infección controlando las poblaciones de *A. aegypti* mediante la reducción de los criaderos, el control de larvas y el uso de insecticidas.

Referencias

1. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. CDC DENV-1-4 real-time RT-PCR assay. Se puede consultar en: https://www.cdc.gov/dengue/resources/rt_pcr/CDCPackageInsert.pdf. Consultado el 22 de junio del 2018.
2. Blacksell SD, Jarman RG, Gibbons RV, et al. Comparison of seven commercial antigen and antibody enzyme-linked immunosorbent assays for detection of acute dengue infection. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(5):804-810.

[L. E. B. Nabarro, E. J. Aarons]

