

# LINEAMIENTOS TECNICOS PARA EL DIAGNOSTICO POR LABORATORIO DE INFECCION POR DENGUE EN PANAMA

ACTUALIZADO AL 30-09-2011



# LINEAMIENTOS TECNICOS PARA EL DIAGNOSTICO POR LABORATORIO DE INFECCION POR DENGUE EN PANAMA

## Clasificación de la Infección por Dengue

Según la OMS la infección por el virus del Dengue se clasifica en:

- **Primaria:** En personas en contacto por primera vez con algún serotipo y cuyos títulos de anticuerpo homólogos no excede usualmente de 1:1280.
- **Secundaria:** En personas infectadas con otros serotipos cuyos títulos de anticuerpos heterólogos usualmente es mayor de 1:1280.

La clasificación de la infección de dengue en primaria o secundaria no se solicita en la actualidad en Panamá, pero se incluye para conocimiento general porque les puede ayudar a interpretar los resultados según adjunto de las pruebas que estaremos implementando en la red de laboratorio. Toda infección sea primaria o secundaria indica un caso agudo de dengue que amerita ser notificada como tal, para realizar oportunamente las medidas de prevención y control en el perifoco.

## CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE ESTOS EVENTOS:

### INFECCION PRIMARIA

El Antígeno NS1 (Ag NS1) se encuentra circulante desde el día 1 hasta el día 9 de iniciados los síntomas. No es detectable una vez aparecen los anticuerpos anti NS1 principalmente en la fase convaleciente. Circula con altos niveles en suero durante toda la fase clínica de la enfermedad y en algunos casos, al inicio de la fase convaleciente.

Los anticuerpos IgM se producen 5 días después de iniciado los síntomas y llegan a su nivel máximo entre la 1-3 semana y persisten hasta 60 días.

Los anticuerpos IgG aparecen, aproximadamente después del día 14 de iniciados los síntomas.

### INFECCION SECUNDARIA

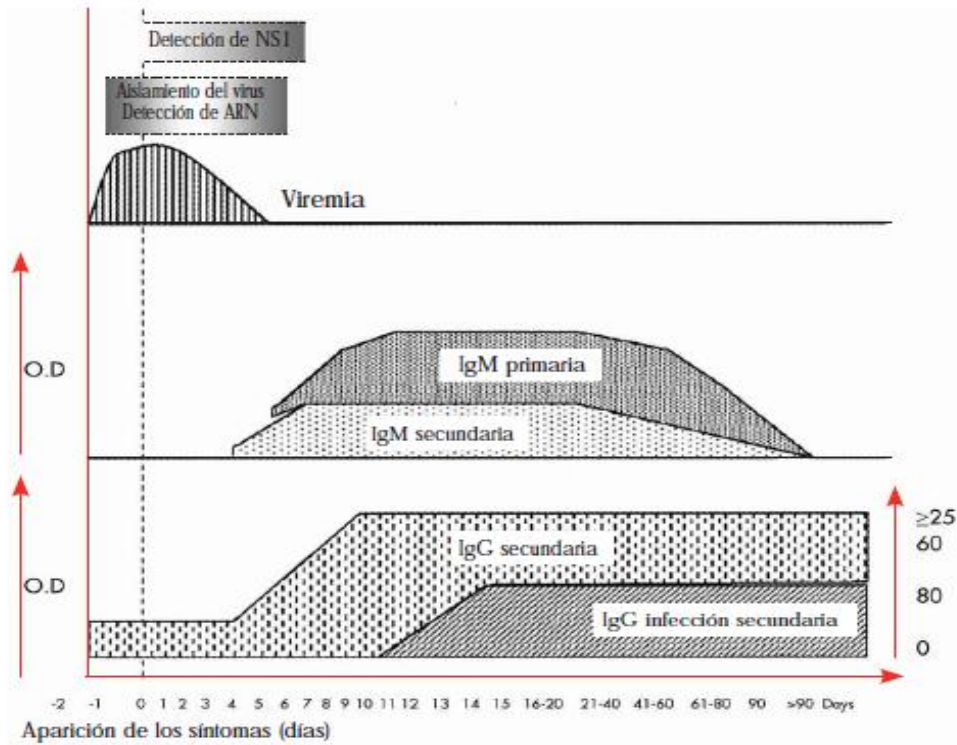
El Ag NS1 se encuentra circulante desde el día 1 hasta el día 9 de iniciados los síntomas. No son detectables una vez aparecen los anticuerpos anti NS1 principalmente en la fase convaleciente.

Los anticuerpos IgM podrían ser producidos hasta 20 días después de iniciados los síntomas y a niveles muy bajos o indetectables por un corto periodo de tiempo.

Los anticuerpos IgG aumentan rápidamente 1 a 2 días después de iniciados los síntomas y persisten en niveles altos por 30 a 40 días y luego bajan a niveles encontrados en infección pasada.

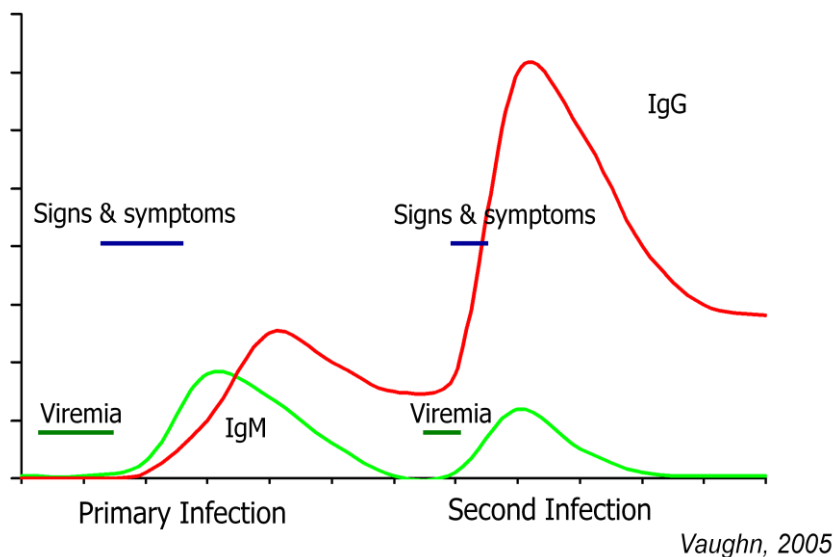
En los laboratorios regionales para Dengue tendremos disponibles las pruebas serológicas de ELISA de captura aprobadas por el LCRSP que detectarán anticuerpos IgM e IgG.

A continuación se presenta la línea de tiempo aproximada de las infecciones primarias y secundarias por el virus del dengue:



*Dengue, Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y Control, nueva edición 2009 (OPS)*

### **Respuesta inmune a la infección por Dengue**



*Vaughn, 2005*

## **PRUEBAS DE LABORATORIO:**

**Pruebas de laboratorio indicadas según tipo de muestra para casos agudos de 0-3 días de evolución.**

**a. Suero:**

- Cultivo viral
- Biología Molecular (PCR)
- ELISA para Ag NS1
- Prueba rápida para Ag NS1(\*)

**b. Tejido(casos fatales):**

- Biología Molecular (PCR)

**Pruebas de laboratorio indicadas según tipo de muestras para casos con 5-21 días de evolución.**

**a. Suero:**

- ELISA para anticuerpos (IgM/IgG)
- Prueba rápida para anticuerpos (IgM/IgG)(\*)

**b. Tejido (sólo en casos fatales):**

- Biología Molecular (PCR)

(\*)Requieren muestra para confirmación por prueba de anticuerpos de ELISA.

Recordar que los pacientes captados en el día 4° a partir de inicio de los síntomas, **no se le debe tomar muestra** y citar del 5° día al 21° día, excepto en casos fatales, graves u hospitalizados.

## **CONFIRMACION DE RESULTADOS SEGÚN METODOLOGIA UTILIZADA: Todas las pruebas rápidas para antígeno NS1 tomadas de 0-3 días de evolución(\*):**

- a. Resultado positivo y negativo:** deben ser confirmadas por ELISA para detección de anticuerpos con una segunda muestra tomada en el periodo de 5-21 días de evolución.

## **Pruebas rápidas para anticuerpo IgG/IgM tomadas de 5-21 días de evolución:**

- a. Resultado positivo(\*):** deben ser confirmadas por la técnica de ELISA para detección de Anticuerpos IgG/IgM con la misma muestra.
- b. Resultado negativo:** descartada infección por dengue.

## **Pruebas de ELISA para Antígeno NS1 tomadas de 0-3 días de evolución con:**

- a. Resultado positivo:** se confirma infección por dengue.

Una prueba de ELISA para antígeno NS1 positiva se considera como caso confirmado y no necesita una segunda muestra para su confirmación.

**b. Resultado: negativo.** La literatura reporta que no descarta totalmente la infección por dengue, por lo cual hasta segunda orden se requerirá tomar II muestra para detección de anticuerpo por ELISA, ya que una Prueba ELISA o Rápida de Ag NS1 negativo no excluye totalmente infección por dengue.

Esto se debe a que tan pronto empieza el paciente a producir anticuerpos específicos contra el Ag NS1, tanto los virus como los antígenos del dengue desaparecen de la sangre. Aunque la aparición de éstos anticuerpos anti-NS1 se da en promedio luego del día quinto, este momento puede variar de acuerdo a la capacidad de la respuesta inmune de un individuo a otro. Estudios al respecto, recomiendan como estrategia que se solicite una segunda muestra tomada en el periodo de 5-21 días de evolución para hacerle detección de anticuerpos lo cual aumenta mucho la sensibilidad de la detección de la infección. Dada la poca experiencia de los países en el uso de estas pruebas de antígeno, Panamá mantendrá esta posición hasta que la OMS/OPS emita lineamientos claros al respecto, que se espera sea a final del 2011. Cualquier cambio se notificará oportunamente.

### GUÍA PARA LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE SEROLOGIA

**IGM + / IGG -:** INFECCION PRIMARIA-----caso de **dengue** que debe notificar

**IGM + / IGG +:** INFECCION SECUNDARIA- caso de **dengue** que debe notificar.

**IGG: + / IGM -:** INFECCION SECUNDARIA-- caso de **dengue** que debe notificar

**IGG- / IGM -:** NEGATIVO-----descarta la infección aguda de dengue

**AgNS1 +:** INFECCION AGUDA (no permite indicar si es primaria o secundaria) pero es un caso de dengue que se debe notificar).

Estas indicaciones rigen para las pruebas de ELISA para detección de anticuerpos utilizadas por el MINSA y CSS, que detectan infecciones agudas primaria y/o secundaria de dengue.

#### INFORMACION RELEVANTE

Recordar que la confirmación de dengue por laboratorio solo está indicada para pacientes sin contacto comunitario, familiar o laboral con casos conocidos de dengue en los últimos 30 días. En los casos con el contacto con casos confirmados en los últimos 30 días, debe aplicarse el concepto de **nexo clínico-epidemiológico**. En ambos casos está indicado activar la vigilancia para las acciones de prevención y control. Los laboratorios juegan un rol importante fortaleciendo la notificación oportuna de casos sospechosos al equipo de trabajo local.

Tome muestra (s) según los siguientes criterios:

a) **Paciente sospechoso febril hiperagudo (día 0, 1,2, 3 luego del inicio de síntomas).**  
El día cero (0) es el día en que empieza la fiebre.

- En las primeras 72 horas luego del inicio de la fiebre, tomar muestra inmediata y  **citar para II muestra** luego de 7 días de la I muestra.
- Esta I muestra es valiosa para la vigilancia virológica, debe conservarse y trasladarse al ICGES en frío para preservar el virus y poder hacer su aislamiento y así conocer los serotipos circulantes, no congelar. Recordar que en brotes o epidemias se limita a sitios centinelas.
- Esta I muestra no es útil para la detección de anticuerpos, porque no ha dado tiempo al sistema inmunológico a producir anticuerpos por tanto, es vital la II muestra para poder verificar el diagnóstico de la infección. Si no se envía la II muestra quedará como indeterminado.
- Máximo periodo para tomar la II muestra hasta los 21 días luego del inicio de síntomas.

b) **Paciente sospechoso en su 5° a 21 días**

- Tomar muestra inmediatamente.
- En algunos casos podrá solicitarse una segunda muestra para verificar resultados en zona gris. Sobretudo en los casos al día 5 y 6.
- Se recomienda a los casos del 5 y 6 día con resultado negativo pero con clínica compatible con la enfermedad, tomar II muestra.

**Recordar:**

- Muestras del día cuatro (4), no se procesaran excepto ante caso graves o fatales u hospitalizados.
- Según el protocolo de atención los casos deben tener seguimiento diario hasta pasar la fase crítica. Por lo cual los lineamientos de laboratorio solo aplican para las muestras no para el manejo clínico.
- Se debe mandar al LCRSP el 10% de las muestras positivas y negativas para el Control de Calidad.
- Es obligatorio el uso del formulario de solicitud de prueba de dengue por el médico tratante, ya que contiene las variables necesarias para el sistema de información.
- El personal de laboratorio debe verificar la anotación de la fecha de inicio de síntomas (FIS) para vigilar el cumplimiento es estas indicaciones.
- Se requiere una comunicación y coordinación permanente entre laboratorio, epidemiología y clínicos para el adecuado uso de las pruebas y recursos disponibles en la instalación.

Cualquier duda comunicarse a Depto. de Virología del LCRSP/ICGES o Depto. de Gestión de Laboratorio del MINSA.

Al 30 de Septiembre de 2011