

DENGUE y DENGUE HEMORRÁGICO

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de laboratorio de la infección por el virus del Dengue se basa en métodos directos: aislamiento del virus o búsqueda del genoma viral (RNA) y métodos indirectos: detección de los anticuerpos circulantes totales, IgG o IgM específicos.

Se detallan a continuación los conceptos fundamentales para efectuar la interpretación de los resultados por las técnicas implementadas en el laboratorio central del hospital.

I. Diagnóstico serológico.

MUESTRA: suero. (Sangre entera en tubo seco preferentemente en ayunas)¹.

Existen varias metodologías para la búsqueda de anticuerpos, dentro de las cuales el enzimo inmuno ensayo es una de las más comunes dentro del laboratorio.

Independientemente de cualquiera que sea la técnica utilizada, la interpretación inequívoca de infección sólo puede realizarse demostrando seroconversión positiva ² con dos muestras pareadas, una en la fase aguda y otra en la fase de convalecencia. El empleo de una sola muestra tiene valor en los ensayos de vigilancia pero, sin el seguimiento serológico, es inaceptable para la confirmación diagnóstica.

La bibliografía enfatiza la necesidad de tomar en cuenta que los resultados de la serología NO DEBEN ser utilizados para la toma de decisiones de manejo clínico.

Búsqueda de anticuerpos anti Dengue IgM específicos por la técnica de ELISA por inmuno captura (MAC-ELISA).

Es el ensayo más difundido a través de todo el mundo en los últimos años.

Las IgM se positivizan unos pocos días antes que las IgG.

Cuando se utiliza **una sola muestra obtenida en la fase aguda de la enfermedad**, los datos citados por Gubler señalan para la técnica de ELISA IgM de captura un 1.7% de falsos positivos y un porcentaje variable de falsos negativos que depende del momento de extracción (ver tabla 1); estos resultados pueden llevar a subestimar el diagnóstico de Dengue al tomar la muestra antes de que el sistema inmune del paciente sintetice las IgM. Esta situación mejora notablemente cuando se utilizan muestras pareadas como se mencionara más arriba.

1 No es indispensable el ayuno pero se debe tener presente que los sueros lipémicos interfieren con las reacciones serológicas y en esos casos se deberá solicitar nueva muestra.

2 Aumento de dos o más títulos dobles en el nivel de anticuerpo o demostración de positividad de la segunda muestra frente a una primera muestra negativa. Gubler, D.J.; Clin Microbiol Rev 11: 480 – 496 (1998)

Tabla 1: En la siguiente tabla resumimos algunos datos estadísticos publicados:

Momento de la toma de muestra después del inicio de los primeros síntomas (días)	Porcentaje de positividad ³
5	80%
6 – 10	93%
10 – 20	99%

La presencia de falsos positivos en general está relacionada con infecciones por otros flavivirus como Fiebre Amarilla (YFV), encefalitis de St. Louis, virus de la encefalitis japonesa (JEV), virus del Nilo occidental (WNV), entre otros.

El único estudio multicéntrico encontrado en la bibliografía señala para esta técnica un 92.1% de sensibilidad y un 88.1% de especificidad.

Un estudio reciente llevado a cabo por Houghton-Trivino y colaboradores ha demostrado un 42% de reacciones falsas positivas para esta técnica después de la vacunación contra fiebre amarilla. ⁴

INTERPRETACIÓN:

Reactivo: se considera evidencia presuntiva de infección reciente por virus del Dengue. No necesariamente significa infección actual ya que los anticuerpos pueden persistir durante 2 a 3 meses.

No reactivo (+ Clínica compatible): No se descarta la infección. Se debería solicitar una nueva muestra en 7 – 10 días incluyendo el pedido de búsqueda de anticuerpos anti Dengue IgM e IgG.

Búsqueda de anticuerpos anti Dengue IgG.

En una infección primaria, **los anticuerpos IgG aparecen pocos días después de la positivización de los IgM** y generalmente perduran por muchos años, sino toda la vida. En una infección secundaria los anticuerpos IgG se disparan a títulos altos rápidamente. Por estas razones, la presencia de IgG en una muestra única de suero no tiene significado clínico.

³ Gublier, D.J.; Sather, G.E. Proceedings of the International Symposium on Yellow Fever and Dengue, (1988).

⁴ HOUGHTON-TRIVINO, Natalia; MONTANA, Diana and CASTELLANOS, Jaime. Dengue-yellow fever sera cross-reactivity; challenges for diagnosis. *Rev. salud pública* 2008, v. 10, n. 2 [cited 2009-04-16], pp. 299-307. Available from: < http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642008000200010&lng=en&nrm=iso >. ISSN 0124-0064. doi: 10.1590/S0124-00642008000200010

La verdadera utilidad de este ensayo está relacionado con la demostración de una seroconversión positiva, es decir cuando el paciente, en muestras pareadas con una diferencia de 10-15 días, pasa de “no reactivo” a “reactivo” o la diferencia de títulos entre la primera y la segunda muestra es igual o mayor a dos diluciones dobles.

La presencia de anticuerpos IgG reactivos con título sostenido (igual título en ambas muestras), e IgM no reactiva, indicaría infección previa o un caso de falso reactivo.

INTERPRETACIÓN:

Reactivo: *se considera como presunción de infección previa o reciente por virus del Dengue. Para confirmar este resultado deberá realizarse el estudio de IgM y solicitar una nueva muestra en 8 -10 días para confirmar reactividad. (Existe reactividad cruzada con otros Flavivirus, inclusive en pacientes vacunados para Fiebre Amarilla).*

No reactivo (+ Clínica compatible): *No descarta la infección previa o reciente. Se debería solicitar una nueva muestra en 7 – 10 días incluyendo el pedido de búsqueda de anticuerpos anti Dengue IgM e IgG.*

II. Amplificación génica del RNA del virus del Dengue. (PCR en tiempo real)

MUESTRA: Sangre EDTA. (no menos de 5mL de sangre en tubo de hemograma, preferentemente en ayunas²)

Este ensayo es un método directo que detecta la presencia del genoma viral, con alta sensibilidad pero solo tiene valor durante la fase de viremia.

La viremia comienza antes de la aparición de los signos y síntomas de dengue y alcanza su máxima expresión al inicio de los primeros síntomas. Por lo tanto esta metodología **solo tiene valor durante los primeros 3 a 5 días** después del inicio de la sintomatología, en la fase aguda febril.

INTERPRETACIÓN:

Resultado positivo: *define la presencia del genoma viral.*

Resultado negativo: *no asegura la ausencia de infección, esto depende fundamentalmente del momento de la toma de la muestra.*