

HERRAMIENTAS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR VIRUS DENGUE EN EL URUGUAY

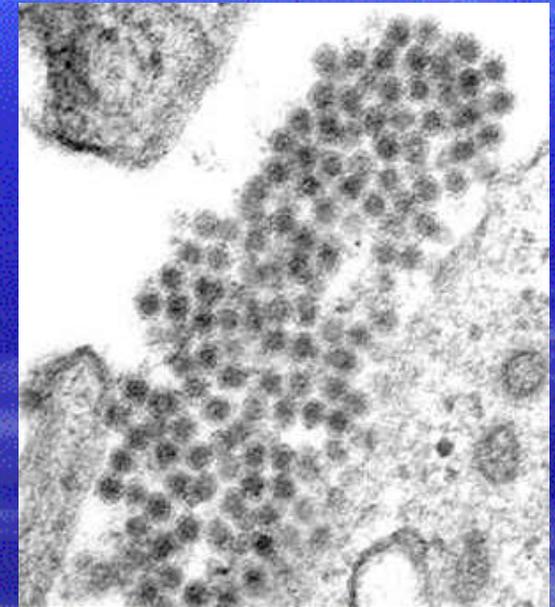
Dr. José C. Russi

Dr. Héctor Chiparelli

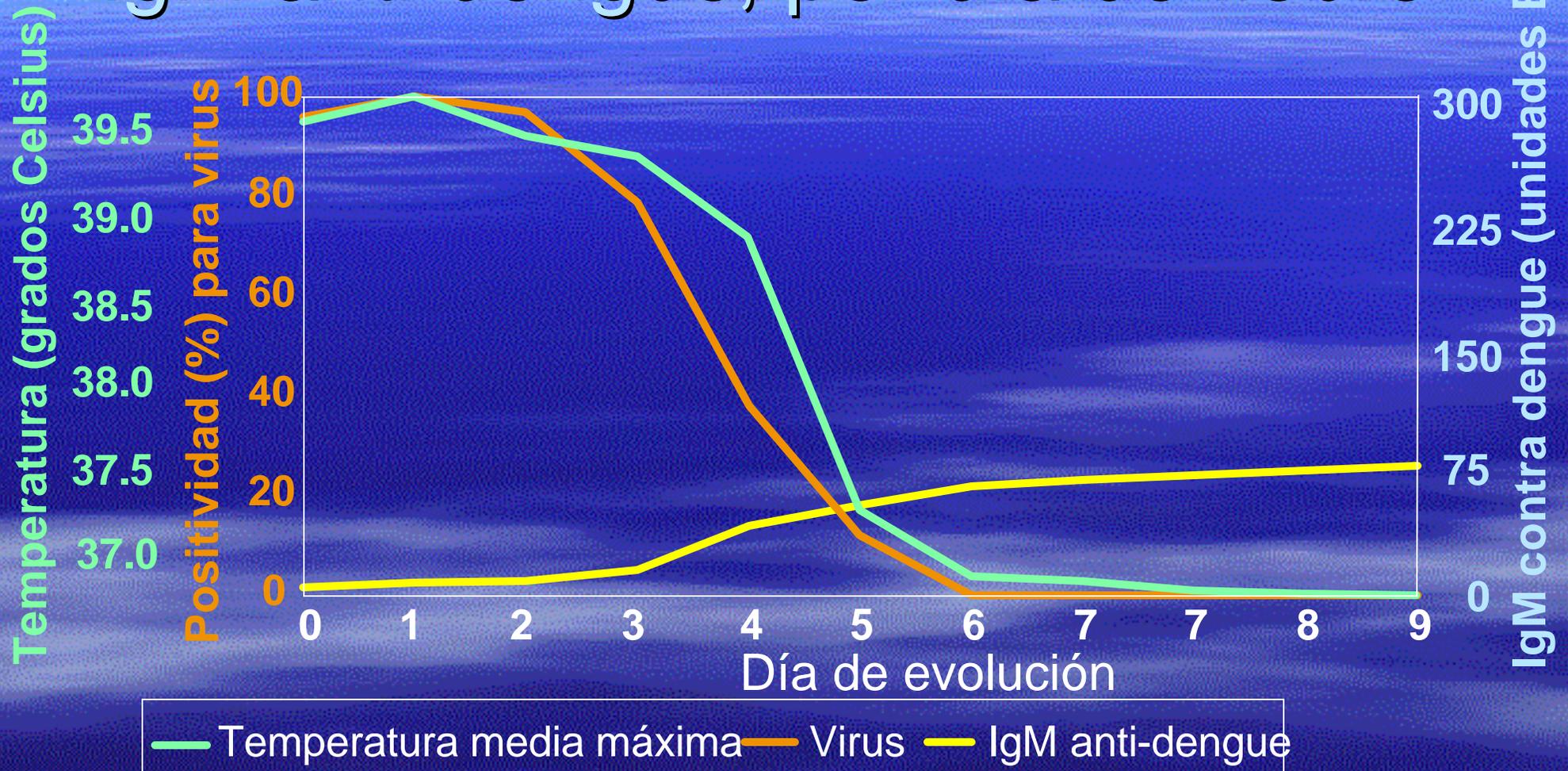
Marzo 2007

VIRUS DENGUE

- Familia: *Flaviviridae*
- Género: *Flavivirus*
- Virus Envuelto
- Nucleocápside Icosahedrica
- Genoma ARN
- 3 proteínas estructurales
 - Proteína Core, Proteína M
 - Proteína E (envoltura): 4 variantes antigénicas
 - DEN-1 DEN-2 DEN-3 DEN-4
- Clasificación ecológica: Arbovirus

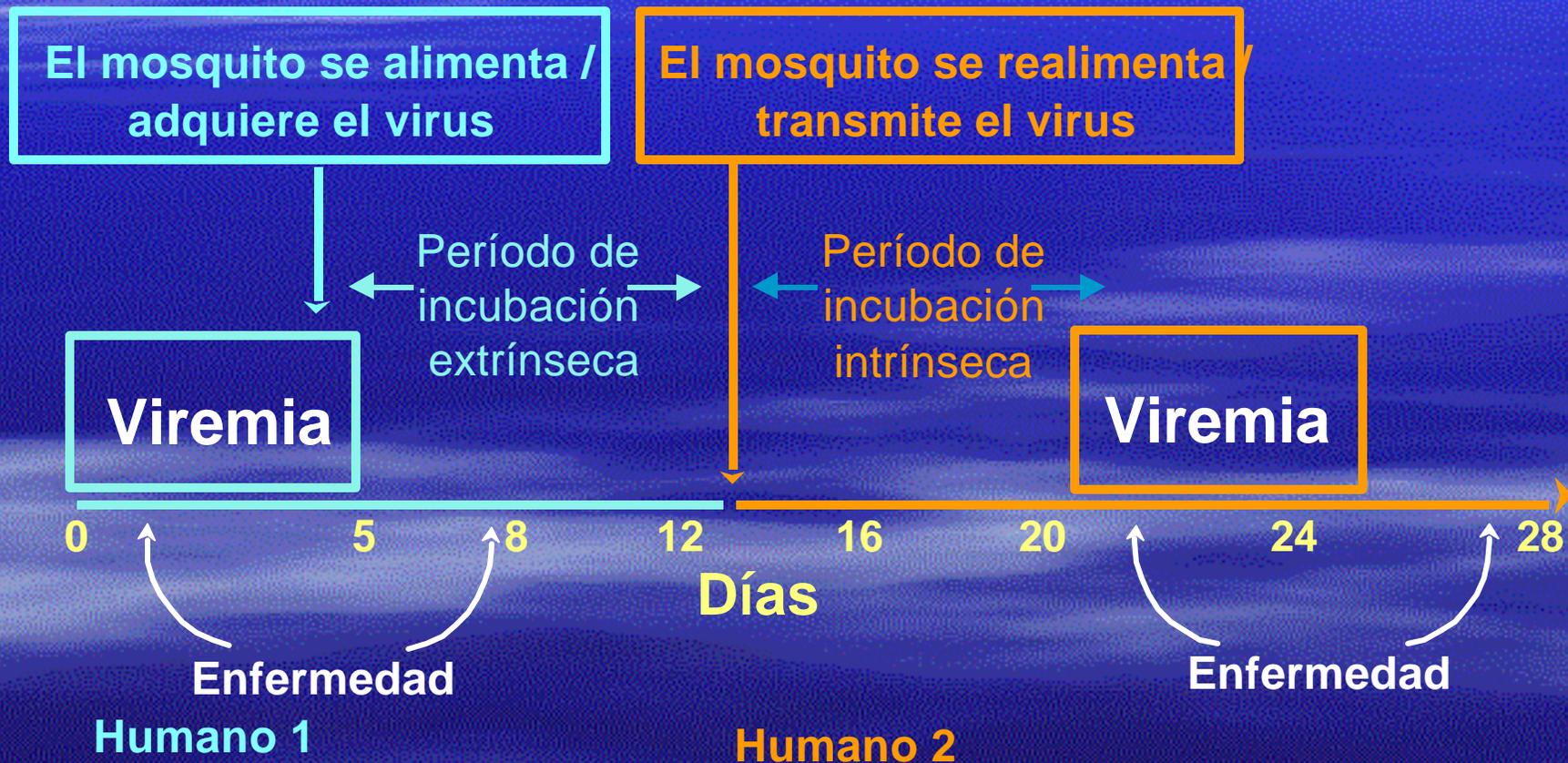


Temperatura, positividad del virus e IgM anti-dengue, por día de fiebre



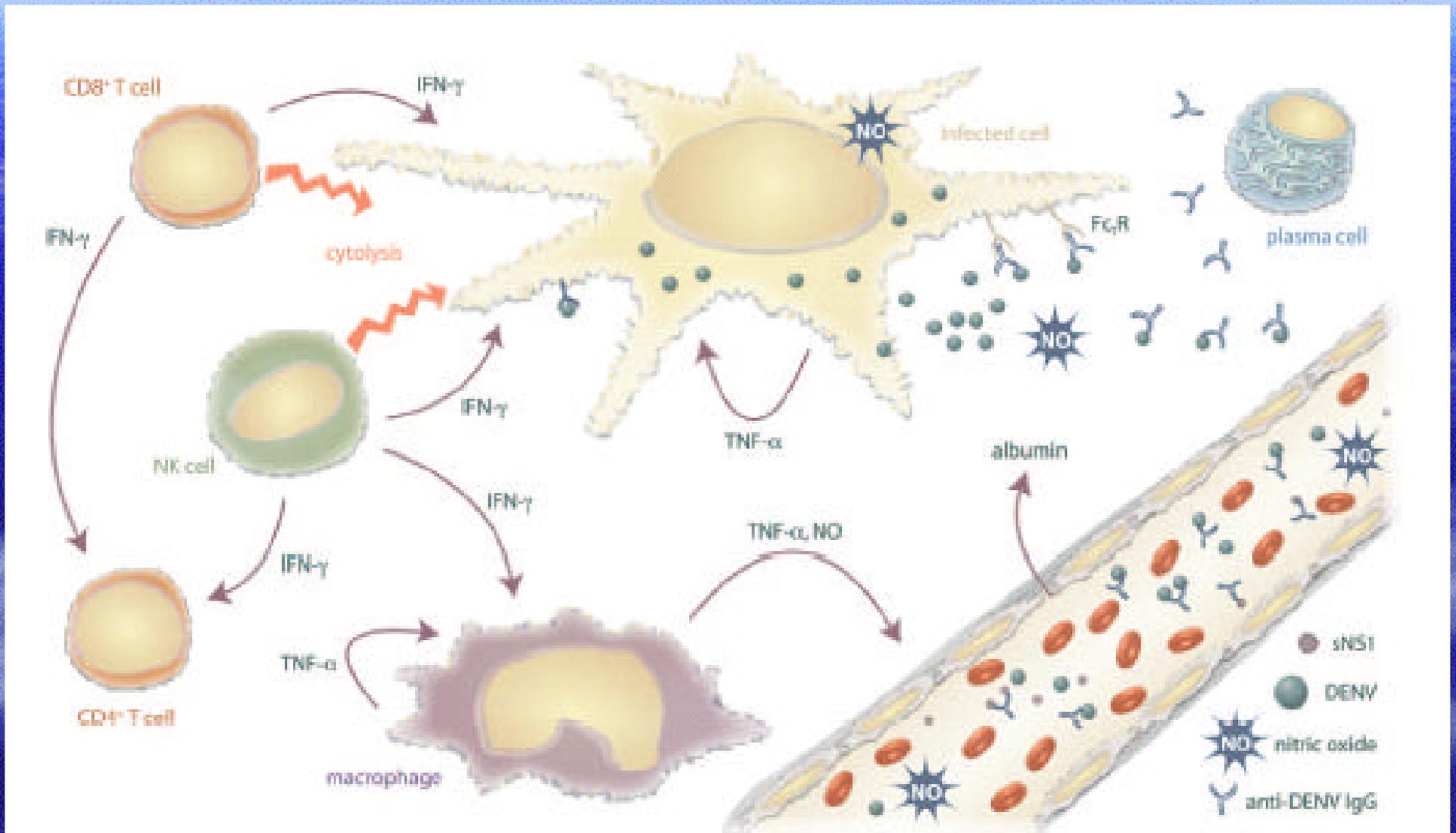
Adaptado de la Figura 1 en Vaughn et al., J Infect Dis, 1997; 176:322-30.

Transmisión del virus del dengue por *Aedes aegypti*



V. Patogénesis de la enfermedad

PATOGENIA DEL DENGUE



Factores de riesgo propuestos para el dengue hemorrágico

- Cepa del virus
- Anticuerpo anti-dengue preexistente
 - infección previa
 - anticuerpos maternos en los menores de un año
- Genética del huésped
- Edad

Hipótesis sobre la patogénesis del DH (Parte 1)

- Las personas que han experimentado una infección de dengue desarrollan anticuerpos en el suero que pueden neutralizar el virus del dengue del mismo serotipo (homólogo)

Hipótesis sobre la patogénesis del DH (Parte 2)

- En una infección subsiguiente, los anticuerpo preexistentes (**heterólogos**) forman complejos con el nuevo serotipo del virus infectante, pero no neutralizan el nuevo virus

Hipótesis sobre la patogénesis del DH (Parte 3)

- La **estimulación dependiente de los anticuerpos** es el proceso en el que ciertas cepas del virus del dengue, formando complejos con anticuerpos no neutralizantes, pueden ingresar en una mayor proporción de células mononucleares, aumentando de este modo la producción del virus.

Hipótesis sobre la patogénesis del DH (Parte 4)

- Los monocitos infectados liberan mediadores vasoactivos, produciendo un aumento en la permeabilidad vascular y manifestaciones hemorrágicas que caracterizan el DH y el síndrome de choque del dengue

Factores de riesgo viral para la patogénesis del DH

- Cepa del virus (genotipo)
 - Potencial epidémico: nivel de viremia, capacidad de infección
- Serotipo del virus
 - El riesgo de DH es máximo para DEN-2, seguido de DEN-3, DEN-4 y DEN-1

Diagnóstico diferencial del dengue

- Influenza
- Sarampión
- Rubéola
- Malaria
- Fiebre tifoidea
- Leptospirosis
- Meningococcemia
- Infecciones por *Rickettsia*
- Sepsis bacteriana
- Otras fiebres hemorrágicas virales

Pruebas de laboratorio para dengue

- Pruebas de laboratorio clínico
 - Examen de sangre, leucocitos, plaquetas, hematócrito
 - Albúmina
 - Pruebas de la función hepática
 - Orina--verifique si hay hematuria microscópica
- Pruebas específicas para dengue
 - Aislamiento del virus
 - Investigación de ARN viral
 - Serología

INFECCION POR VIRUS DENGUE

- DIAGNOSTICO VIROLOGICO
 - certificación diagnóstica
 - caracterización de tipo serológico y genotipo

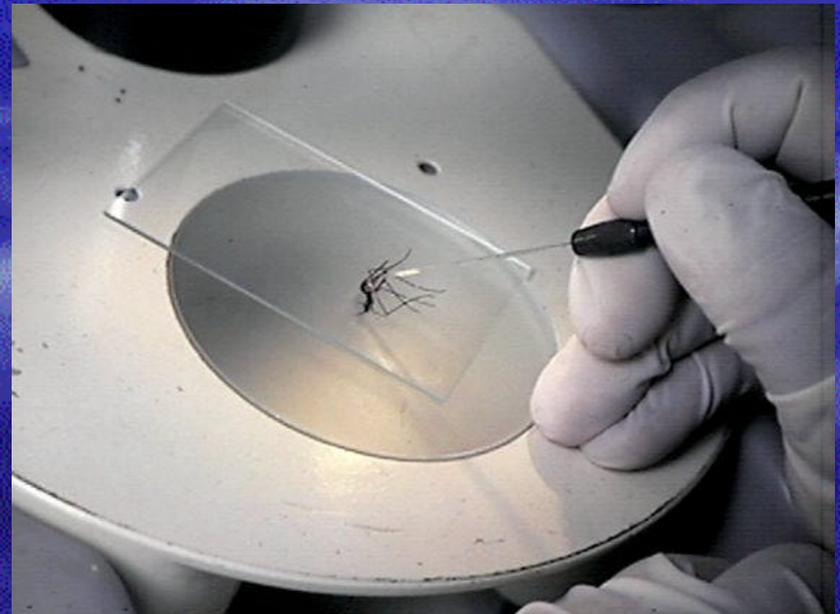
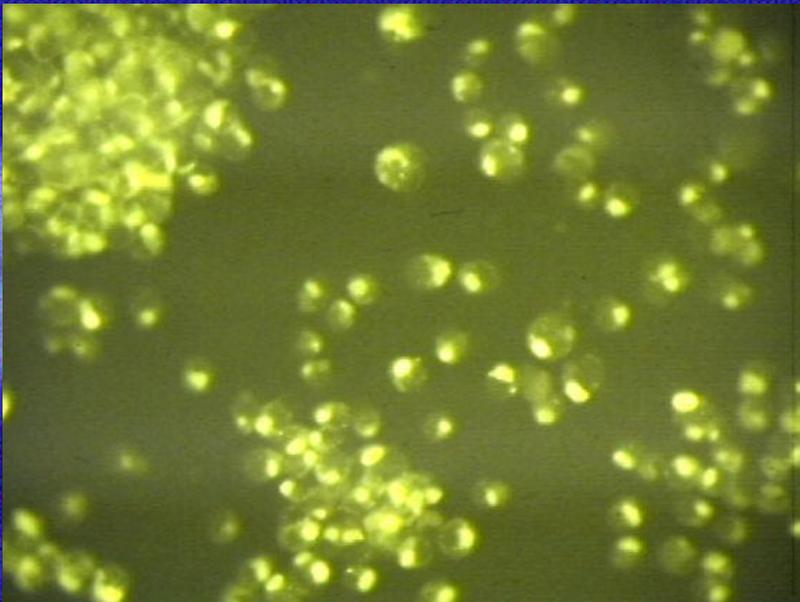
- Aislamiento viral en:

- cultivos de células de mosquito o de mamíferos

- inoculación intracerebral en ratones

- inoculación intratorácica en mosquitos

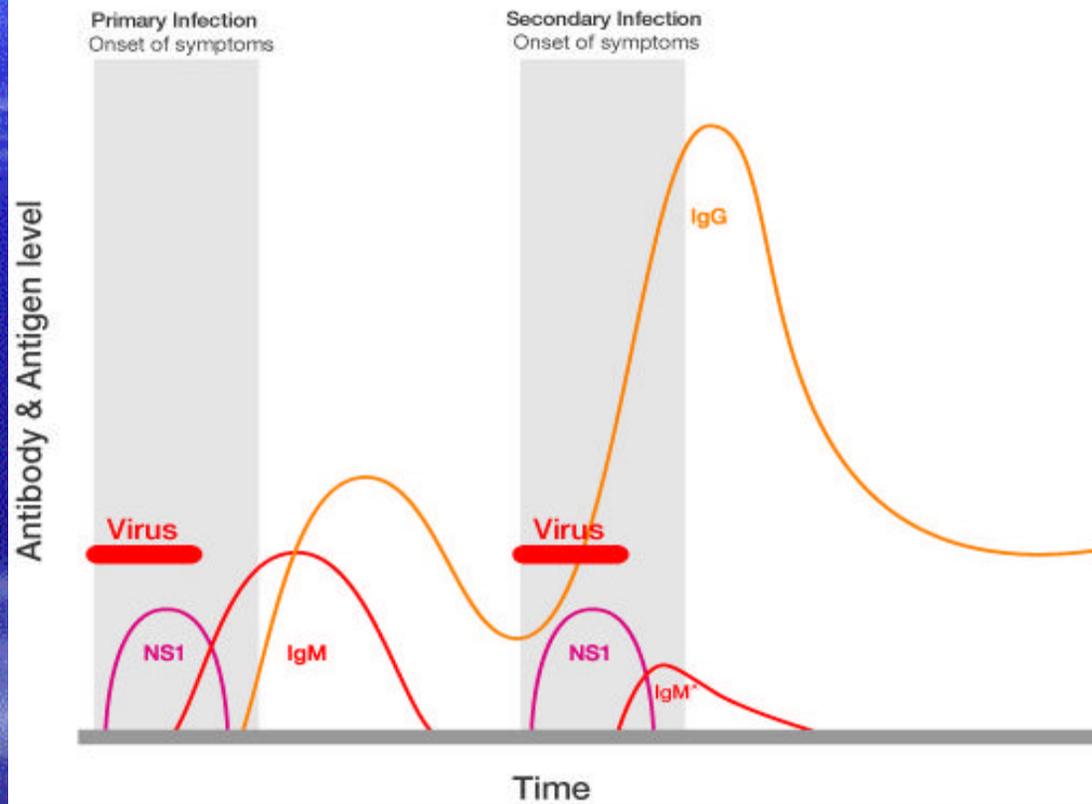
- investigación de ácido nucleico



- DIAGNOSTICO SEROLOGICO
 - Procedimiento de elección
 - Sensibilidad
 - Especificidad
 - Investigación de anticuerpos clase IgM
 - Investigación de anticuerpos clase IgG
 - Técnicas inmunoenzimáticas
 - ELISA en microplaca
 - Inmunodot, Inmunocromatografía



Dengue infection: immune response



INFECCION POR VIRUS DENGUE

- **CONDICIONES DE EXTRACCION DE LA SANGRE**
 - Asepsia (similares a toma de hemocultivo)

 - Una muestra de sangre de 5 ml:
 - sin anticoagulante, en tubo seco, estéril y con tapón de cierre hermético, y

 - Una muestra de sangre de 5 ml:
 - con anticoagulante EDTA, en tubo estéril y con tapón de cierre hermético.
- **OPORTUNIDAD DE OBTENCION DE LA MUESTRA**
 - Dentro de los 5 primeros días de evolución de la enfermedad

INFECCION POR VIRUS DENGUE

- CONSERVACION Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA
 - Conservar las muestras a temperatura entre 4 y 8° C
 - **NO CONGELAR**
 - Enviar al laboratorio dentro de las 24 horas de la extracción, transportándolas en las mismas condiciones de refrigeración
 - **No separar el suero** de la muestra obtenida sin anticoagulante, enviando el tubo primario.
 - Enviar una segunda muestra de sangre (5 ml.) en tubo seco y estéril sin anticoagulante a los 15 - 20 días de la primera muestra. Las condiciones de conservación y envío son las mismas que las del primer envío.

INFECCION POR VIRUS DENGUE

Seguridad

- Se recomienda el sistema triple básico que consiste en tres capas:
 - Un recipiente primario, a prueba de filtraciones, etiquetado conteniendo la muestra, envuelto en suficiente material absorbente en caso de rotura
 - Un segundo recipiente, a prueba de filtraciones, etiquetado, conteniendo al recipiente primario y recubierto de material absorbente.
 - Paquete de envío protegiendo al recipiente secundario
 - Refrigerado (4°C - refrigerantes)
- Los formularios con la información de la muestra deben ser pegados con cinta adhesiva en el exterior del recipiente secundario. La ficha epidemiológica debe ser enviada a Vigilancia Epidemiológica y también al Depto. de Laboratorios

Encuesta serologica para Dengue en el Uruguay.

I

N= 401 Procedencia: Paysandú, Artigas,
Rivera.

Reactividad (anticuerpos totales), IHA y EIA:

Denguevirus 1: 27 (6.7%)

Denguevirus 2: 29 (7.2%)

Encuesta serologica para Dengue en el Uruguay. II

Análisis de una muestra de sueros reactivos

N=16

Anticuerpos neutralizantes anti SLV:14 (87%)

IgM específica SLV: 3 (19%)

Anticuerpos neutralizantes anti Dengue:3 (19%),
todos a bajo título y asociados con títulos altos
para SLV

VALOR DE LOS RESULTADOS SEROLOGICOS PARA DENGUE

Diapo 1

MUESTRA DE SANGRE OBTENIDA EN LA PRIMERA SEMANA DE LA ENFERMEDAD

RESULTADO

INTERPRETACION

IgM + IgG +

Infección reciente por Dengue

IgM + IgG -

Valorar nivel de IgM. Indeterminado?, nueva muestra

IgM - IgG +

Infección pasada

IgM - IgG -

Indeterminado ,nueva muestra

VALOR DE LOS RESULTADOS SEROLOGICOS PARA DENGUE

Diapo 2

MUESTRA DE SANGRE OBTENIDA LUEGO DE LA PRIMERA
SEMANA DE LA ENFERMEDAD

RESULTADO

INTERPRETACION

IgM + IgG +

Infección reciente por Dengue

IgM + IgG -

Indeterminado, nueva muestra ?

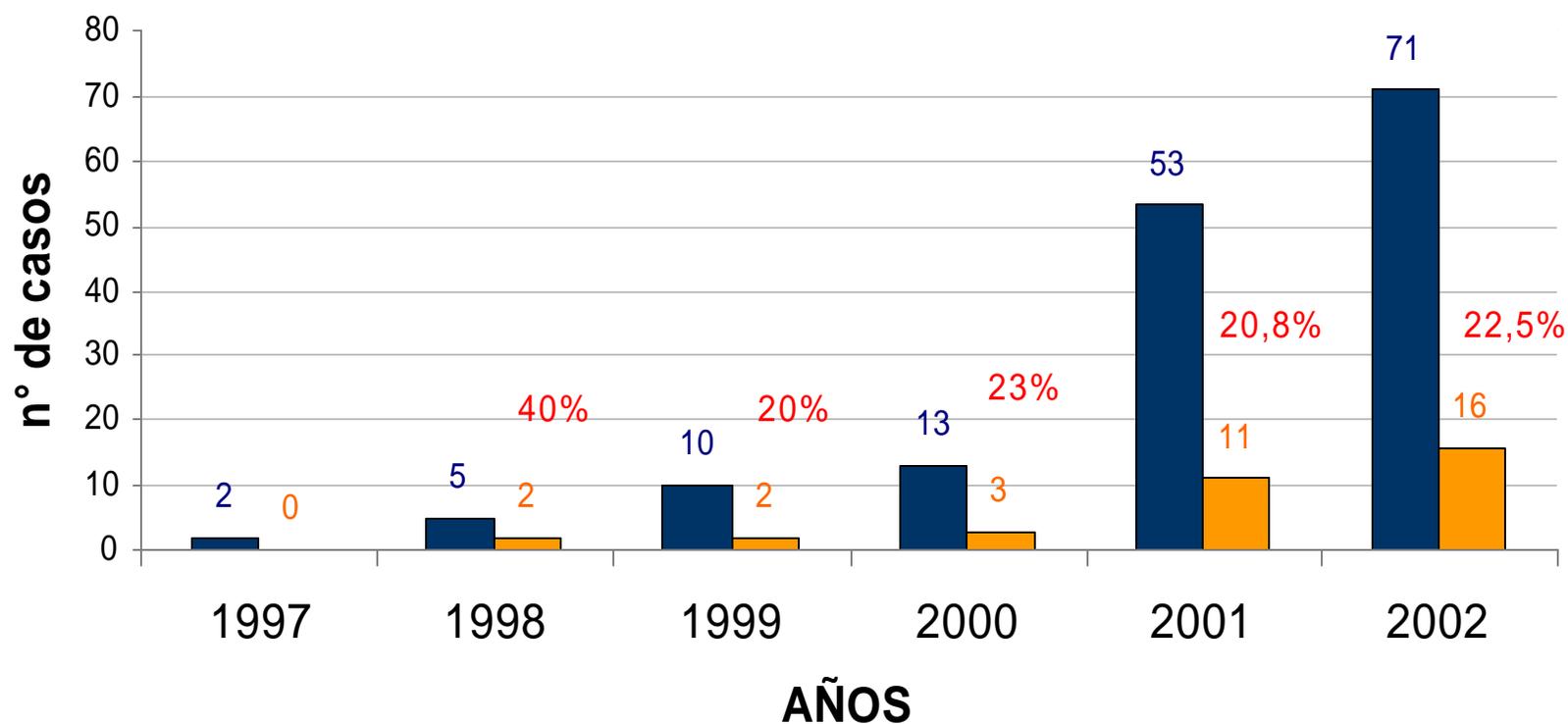
IgM - IgG +

Infección pasada

IgM - IgG -

Descarta infección

Demanda de Estudios y Casos Positivos. Período 1997 - 2002



■ demanda de estudios ■ positivos