

# El Laboratorio en la Vigilancia del Dengue

**Dra. Cynthia Vázquez**

**Dpto. de Virología**

**LCSP**



# Actividades del Laboratorio en la Vigilancia de Dengue

- Investigación de Brotes como componente del Equipo de Salud
- Confirmación de circulación del virus en focos sospechosos
- Serotipificación
- Caracterización molecular de virus dengue Diagnóstico diferencial
- Apoyo para el diagnóstico presuntivo y seguimiento clínico



# Importancia del Laboratorio en las diferentes etapas

- Silencio Epidemiológico
- Alerta Epidemiológica
- Brotes – Epidemias
- Post Epidemia



# Importancia del Laboratorio en las diferentes etapas

- Silencio Epidemiológico
  - Procesamiento de muestras del 100% de notificados
  - Confirmación de transmisión viral
  - Redes de Laboratorios



# Importancia del Laboratorio en las diferentes etapas

- Alerta Epidemiológica
  - Búsqueda activa de Febriles
  - Identificación de Serotipos circulantes
  - Precisar distribución geográfica
  - Redes de Laboratorios



# Importancia del Laboratorio en las diferentes etapas

- Brotes/Epidemias
  - Apoyo al área asistencial
  - Monitoreo de Serotipos circulantes
  - Detección de nuevos focos
  - Diagnóstico diferencial



# Importancia del Laboratorio en las diferentes etapas

- Post Epidemias
  - Certificación de no circulación viral
  - Investigaciones posteriores
  - Evaluación de impacto

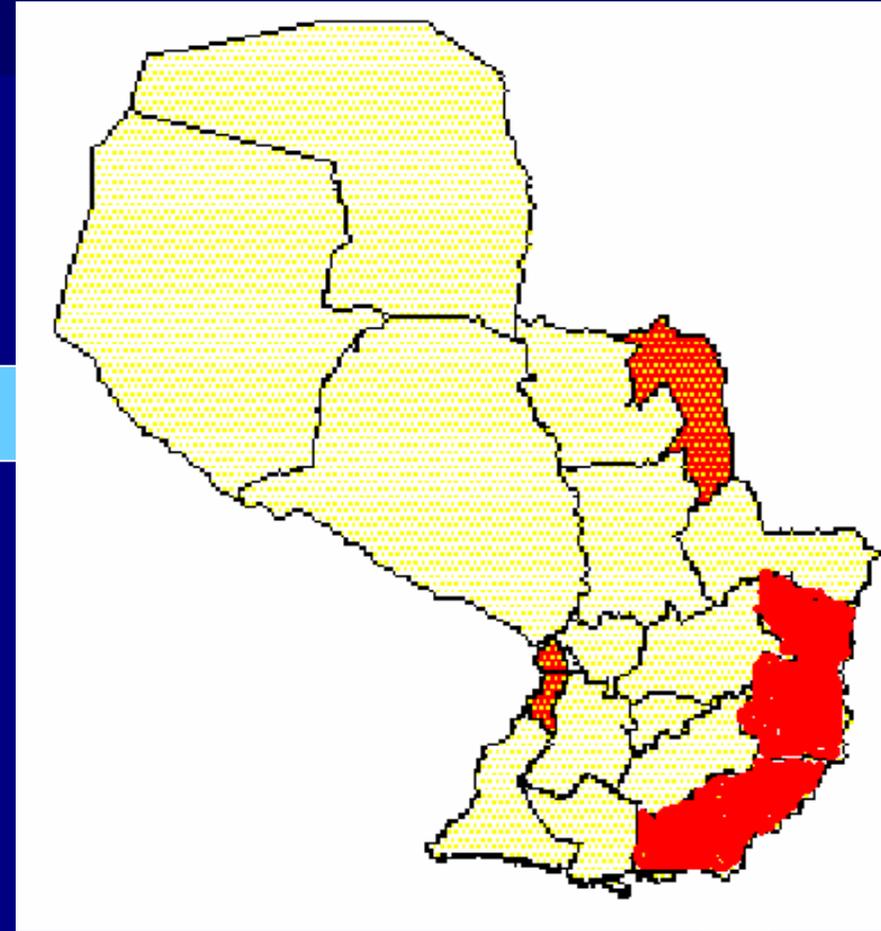
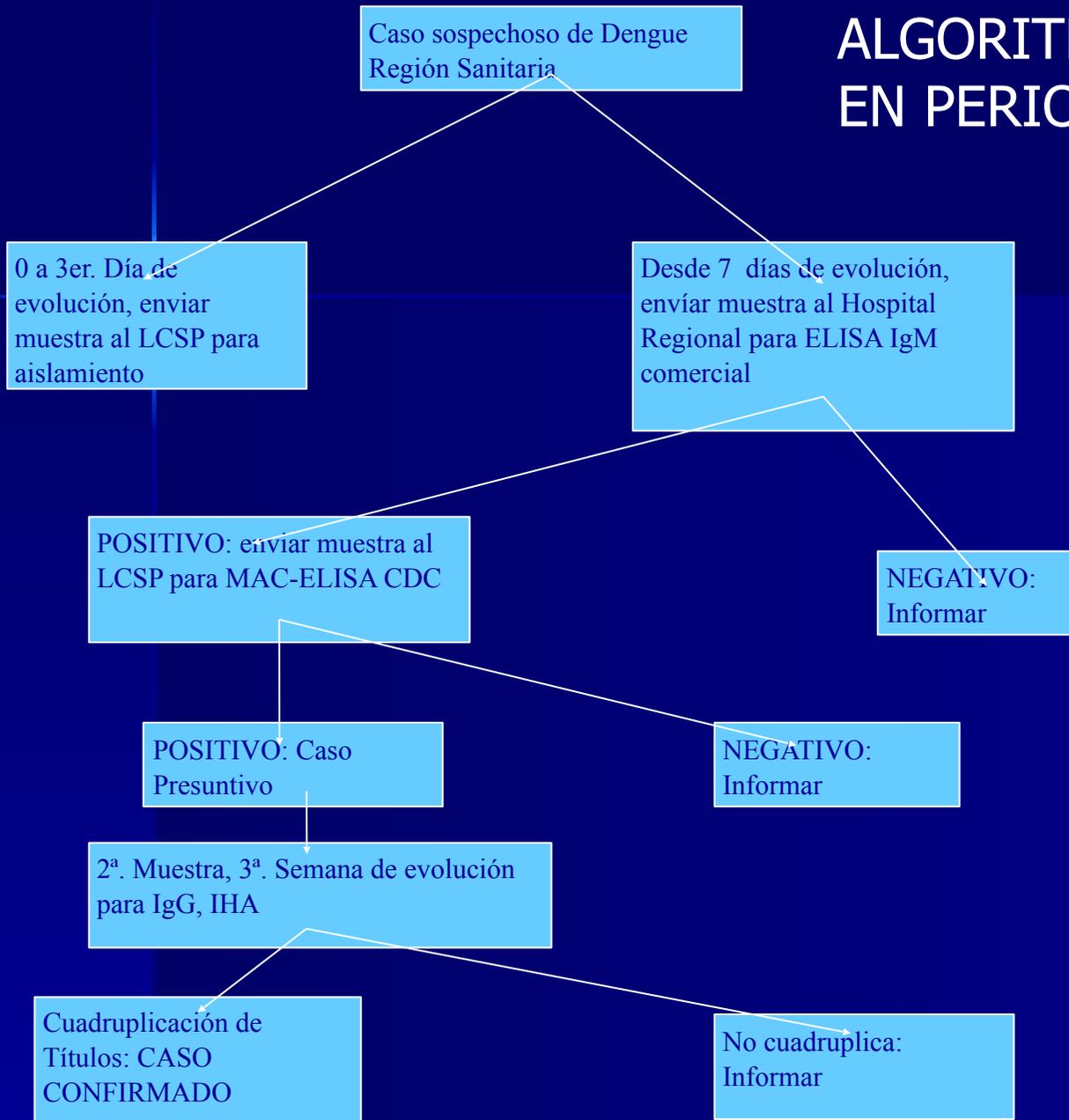


# Pruebas de laboratorio para dengue

- Pruebas de laboratorio clínico
  - Hemograma: leucocitos, plaquetas, hematocrito
  - Albúmina
  - Pruebas de la función hepática
  - Urea, creatinina, TP, gasometría, electrolitos.
  - Orina
- Pruebas específicas para dengue
  - Viroológicas: Aislamiento viral, PCR
  - Serológicas: IgM, IgG, IHA, PRNT, NS1



# ALGORITMO DE VIGILANCIA EN PERIODO INTEREPIDEMICO



# Criterios de Diagnóstico en Periodo Interepidémico

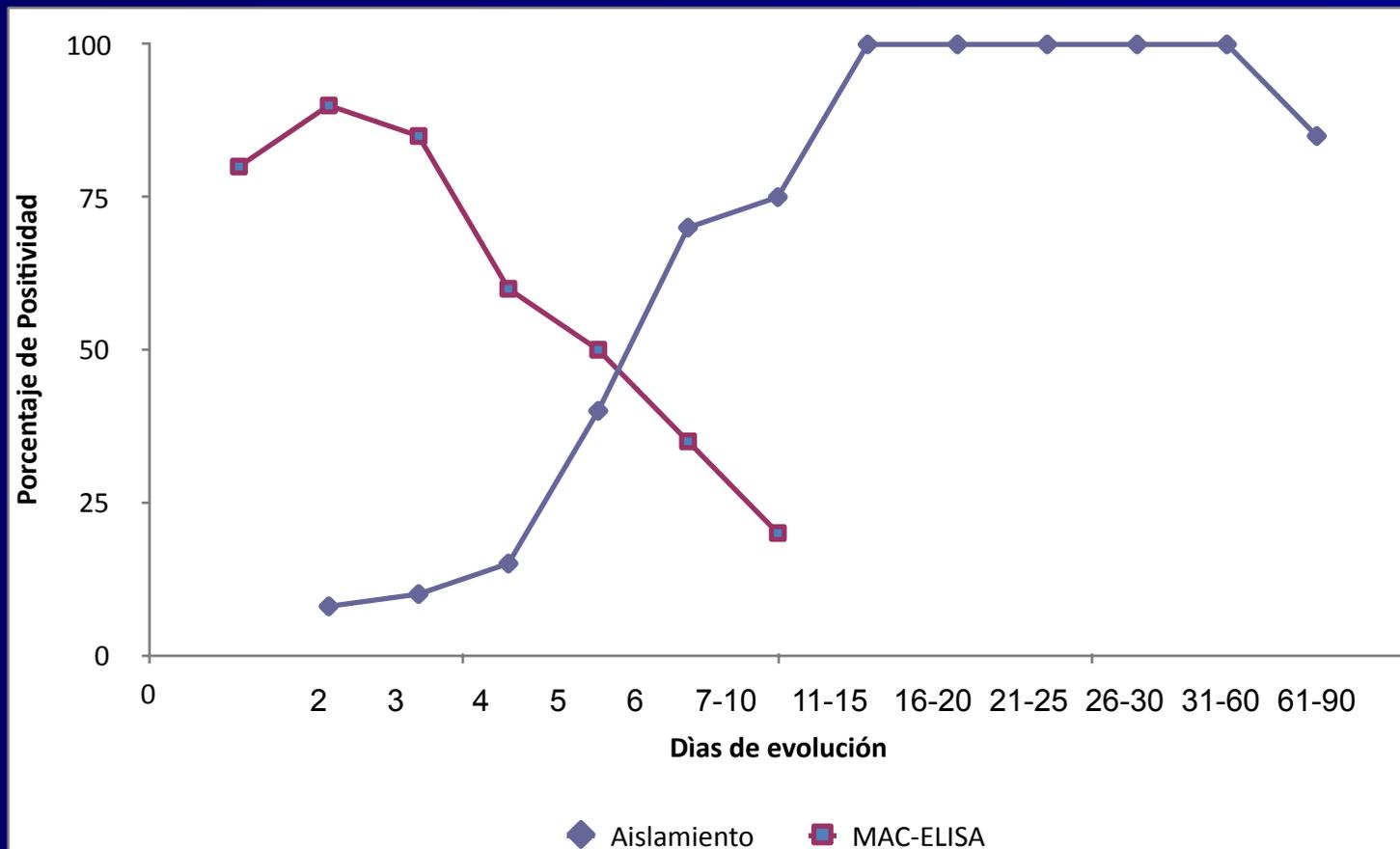
- Presuntivo:
  - MAC-ELISA positivo en muestra única de suero
  - Título de IH  $\geq 1280$  o título equivalente de ELISA IgG en muestra única convalesciente
- Confirmado:
  - Aislamiento del virus Dengue en muestras serológicas o autópsicas
  - Detección de ARN viral por RTPCR
  - Cuadruplicación de títulos de IH o de ELISA IgG en muestras pareadas
  - Detección de antígeno viral en tejido autópsico o muestras de suero.



# **Cuando y como tomar las muestras de sangre ?**



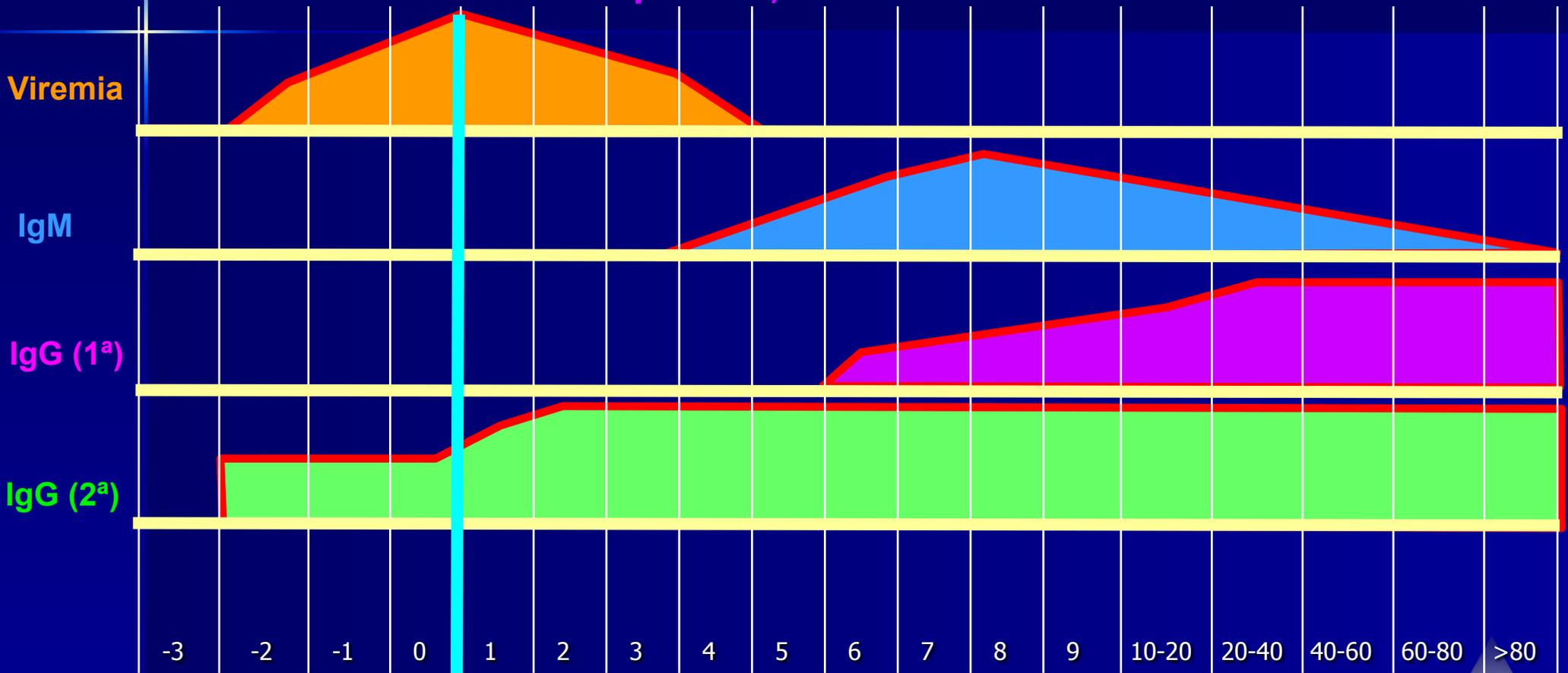
# Aislamiento Viral y MAC-ELISA en casos confirmados de Dengue (Nogueira y col)



# Grafico de la Manifestación en el tiempo del virus y de los anticuerpos IgM e IgG en personas infectadas por virus del Dengue.

Las zonas sombreadas representan el periodo aproximado en que el virus o el anticuerpo pueden detectarse utilizando los métodos usuales

1º Infección primaria; 2º Infección secundaria



Comienzo de síntomas

Días transcurridos desde el comienzo



# Muestra para el diagnostico serologico IgM – IgG (Anticuerpos)

- La muestra se toma desde el 7° día de iniciado los síntomas para el MAC-ELISA.
- Para determinar la cuadruplicación del titulo de IgG, se toman 2 muestras de suero, una de la fase aguda y la otra de la fase convaleciente, 3 semanas después de inicio de los síntomas.



# Muestra para determinación de antígeno (NS1)

- Restringido a personas que sean captadas por el sistema con sospecha de Dengue hemorrágico con hipotensión (grupo C y D) y sin diagnóstico serológico previo.
- La prueba es aplicable a fallecidos con diagnóstico presuntivo de Dengue antes de iniciado los síntomas.
- No se realizará a personas tratadas en forma ambulatoria. (Circular DIVET 06/2007)



# Muestra para el aislamiento viral y PCR

- Deben ser colectadas en tres primeros días de iniciada la enfermedad (fase viremica).
- Para asegurar las optimas condiciones durante el aislamiento, la separación del suero del coagulo se realizará el mismo día de la toma de muestra y asépticamente.
- Los tubos con suero se congelaran y se almacenaran en el freezer, en caso de no enviar inmediatamente. (Lo ideal es congelar a  $-70^{\circ}$  C)
- El suero debe enviarse lo antes posible al laboratorio realizando el transporte en congelación.

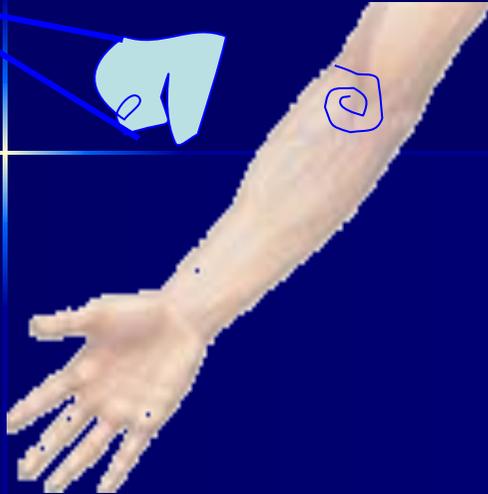


# Conservación y transporte de las muestras

- Durante el envío y transporte de las muestras deben observarse las medidas de seguridad elementales para proteger tanto al personal, como a las muestras en sí.
- El suero debe enviarse dentro de contenedores especiales con tapa rosca asegurada con papel adhesivo.
- Pueden agruparse varios tubos con una liga de goma y envolverlos en suficiente papel absorbente para evitar el derrame en caso de rotura.
- Colocar los tubos envueltos dentro de un contenedor plástico o metálico.
- Enviar los contenedores en cajas de tergopol o termos con refrigerante.
- Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas de las muestras.
- Cada contenedor debe tener los siguientes rótulos: Urgente, frágil, material biológico, mantener en frío, mantener en posición vertical



# TECNICAS DE EXTARCCION Y PREPARACION DE LAS SANGRE AISLAMIENTO VIRAL Y PCR DEL DENGUE



1- Usar Yodo-Alcohol con algodón para limpiar la zona de extracción. Luego desinfectar en forma de espiral con una gasa con alcohol

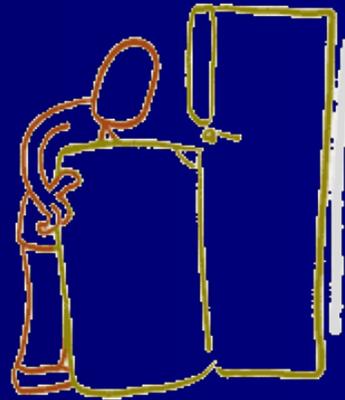
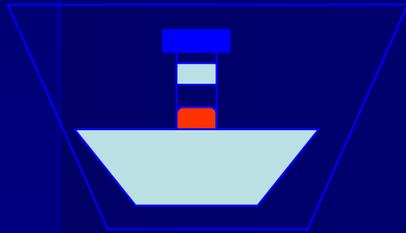
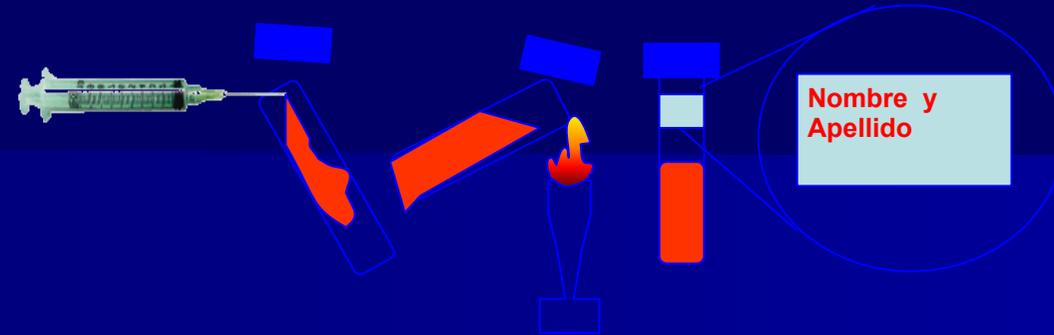
2- Esperar hasta que se seque el área desinfectada  
(sin soplar)



3- Extraer 10 ml de sangre con jeringa desechable

# TECNICAS DE EXTARCCION Y PREPARACION DE LAS SANGRE AISLAMIENTO VIRAL Y PCR DEL DENGUE

4- Cargar la sangre en los tubos estériles correctamente, identificarlos con nombre, flamear la boca de los mismos y tapparlos rápidamente



5- Colocar los tubos que contiene la sangre entre hielo o en el refrigerador (No congelar)

6- La separación del suero debe hacerse en campana de flujo laminar o frente a una llama (Lamparita) y con tapa boca en el mismo día de la extracción



# TECNICAS DE EXTARCCION Y PREPARACION DE LAS SANGRE AISLAMIENTO VIRAL Y PCR DEL DENGUE

7- Remitir el suero al *Laboratorio Central de Salud Pública* en condiciones refrigeradas con la ficha epidemiológica junto con el pedido médico

Contenedor

Hoja de Pedido

Fecha  
Epidemiológica

**Observación:** Las muestras para aislamiento viral deben ser colectadas entre los 3 primeros días del inicio de la fiebre



# MUESTRAS ADECUADAS SEGÚN EL TIPO DE PRUEBA LABORATORIAL

Prueba	Tipo y volumen de muestra	Momento de recolección	Recipiente	Conservación	Transporte
<b>MAC-ELISA</b>	suero 1 mL.	1ª muestra (Fase aguda) después del 7º día del inicio de síntomas.	Tubo estéril, seco, herméticamente cerrado y rotulado. No usar anticoagulantes	En heladera y remitir antes de 24 hs al LCSP.	Caja térmica c/ hielo
<b>Neutralización, IHA</b>	suero 1 mL.	2ª muestra (Fase convaleciente) 3ª semana del inicio de los síntomas			
<b>Aislamiento Viral y/o RT-PCR</b>	Suero 1 mL.	En la fase aguda, hasta el 3º día del inicio de los síntomas	Tubo estéril, seco, herméticamente cerrado y rotulado. No usar anticoagulantes	R e m i t i r inmediatamente al LCSP en forma refrigerada. Congelar a menos 70º C o en Nitrógeno líquido.	Caja térmica c/ hielo seco o Termo para Nitrógeno líquido
	Fragmentos de órganos o tejidos	Hasta 8 horas <i>post-mortem</i>	Frasco con medio de transporte viral, herméticamente cerrado y rotulado		
<b>Inmuno-histoquímica</b>	Cortes de órganos o tejidos	Hasta 8 horas <i>post-mortem</i>	Frasco estéril c/ solución de formol al 10%	Remitir a la Cátedra de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la UNA	Temperatura ambiente



**Muchas Gracias**

