

Análisis del algoritmo de dengue y criterios para selección de metodologías e interpretación de resultados, Argentina 2023-2024

Insumos para la discusión, Reunión de trabajo MSN- Dicei
Noviembre 2023

Dra. Cintia Fabbri y Dra. María Alejandra Morales
INEVH “Dr. Julio I. Maiztegui”

Algoritmo de Diagnóstico de Dengue

- Última actualización 2022
- A la fecha no hay cambios en la disponibilidad de metodologías
- 2023 ha sido el año epidémico de mayor magnitud para dengue en Argentina
- Se plantea la introducción de vacuna para DENGUE Qdenga.

DENGUE | Algoritmo de diagnóstico y notificación de dengue a través del SNVS^{2.0}

Deberá notificarse un caso de Dengue Sospechoso en el SNVS^{2.0} -en forma inmediata-, toda vez que un laboratorio obtenga o reciba una muestra para el estudio de infección por virus dengue. Si el laboratorio notificador no realizara el estudio, deberá derivarla al referente provincial a través del SNVS 2.0

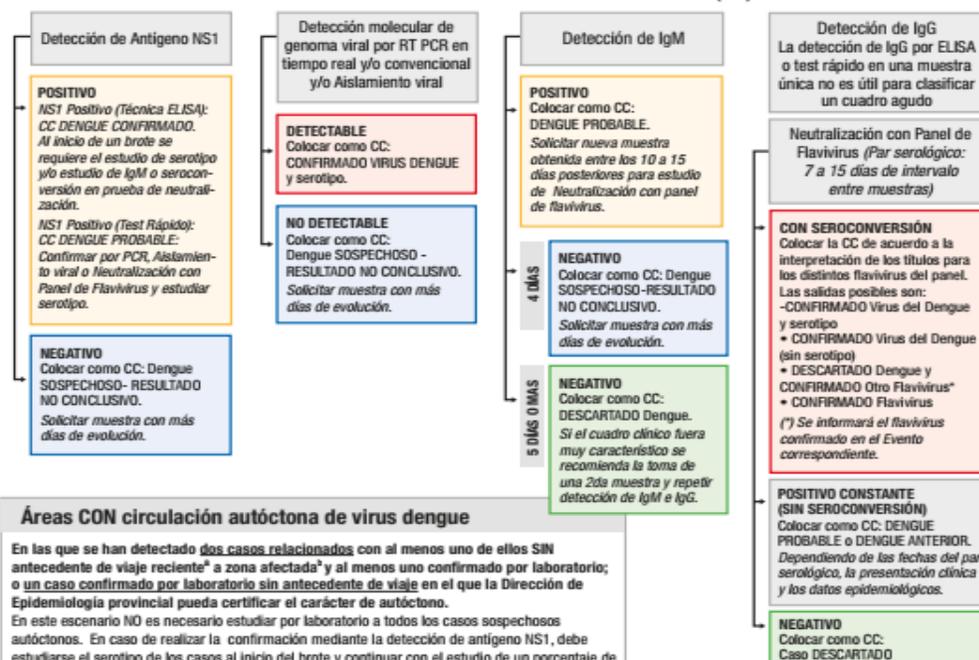
CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Si la muestra es obtenida entre los 0 a 3 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos directos (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida entre los 4 a 6 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre combinar un método indirecto (IgM) y al menos uno directo (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida con 7 o MAS DIAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos indirectos (IgM, Neutralización con Panel de Flavivirus).

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE CASO (CC)



Áreas CON circulación autóctona de virus dengue

En las que se han detectado dos casos relacionados con al menos uno de ellos SIN antecedente de viaje reciente^(a) a zona afectada^(b) y al menos uno confirmado por laboratorio; o un caso confirmado por laboratorio sin antecedente de viaje en el que la Dirección de Epidemiología provincial pueda certificar el carácter de autóctono. En este escenario NO es necesario estudiar por laboratorio a todos los casos sospechosos autóctonos. En caso de realizar la confirmación mediante la detección de antígeno NS1, debe estudiarse el serotipo de los casos al inicio del brote y continuar con el estudio de un porcentaje de los mismos, para su monitoreo y la vigilancia de la posible introducción de nuevos serotipos.

Áreas SIN circulación autóctona de virus dengue

En este escenario TODO CASO SOSPECHOSO DEBE SER ESTUDIADO POR LABORATORIO y se debe procurar concluir el diagnóstico hasta confirmar o descartar la infección. No se recomienda la aplicación de test rápidos en estas áreas. No se recomienda el uso de tests rápidos en periodos interepidémicos, su uso estaría reservado para fortalecer respuesta diagnóstica en áreas con circulación comprobada.

En cualquier escenario epidemiológico TODO CASO SOSPECHOSO FALLECIDO o que presente criterios de DENGUE GRAVE o una clínica atípica debe ser estudiado por laboratorio.

(a) Se considera reciente haber estado dentro de los 15 días previos al inicio de los síntomas en zona afectada.
(b) Se considera zona afectada aquella que presente circulación de virus dengue comprobada.

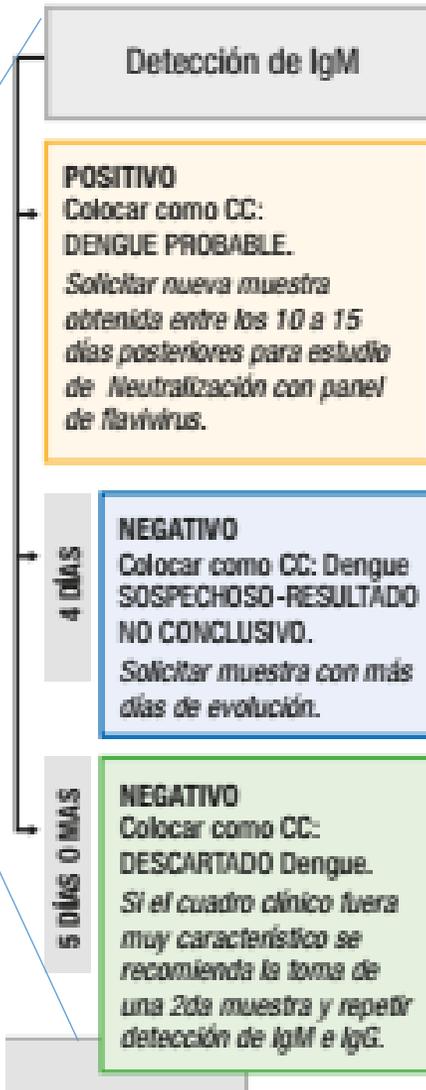
En el contexto de brotes recientes, la persistencia de anticuerpos IgM limita la utilidad de la determinación como marcador de circulación viral activa.

Evidencias en Argentina:

- En estudio realizado en Tucumán, se evidenció que los anticuerpos IgM DENV medidos por un reactivo comercial de ELISA tuvieron una seropersistencia media de 228 días (IC95 203-253) en mayores de 15 años (11 muestreos periódicos realizados en 72 casos de dengue confirmados a propósito de un brote por DENV-1 en 2009). Demostramos seropersistencia superior a 18 meses en un 8.3% de los casos estudiados y una tendencia al descenso de los valores de reactividad al aplicar el reactivo comercial y pudo ser corroborada pero en menor extensión por la metodología "in house" de referencia para la detección de IgM (1,5 % de positividad por MAC-ELISA vs 12,0 % por UM-ELISA a los 15 meses aproximadamente del inicio de los síntomas).

-En mayo del 2005 se obtuvieron sueros de 100 personas provenientes de Jujuy y Salta con diagnóstico laboratorial de DENV en el 2004. Se trató de un único muestreo realizado a más de un año de producida la infección viral. Los resultados obtenidos mostraron que un 30% de las personas estudiadas eran positivas por MACELISA IgM para DEN, representando una persistencia de los anticuerpos de 390-490 días luego del inicio de los síntomas.

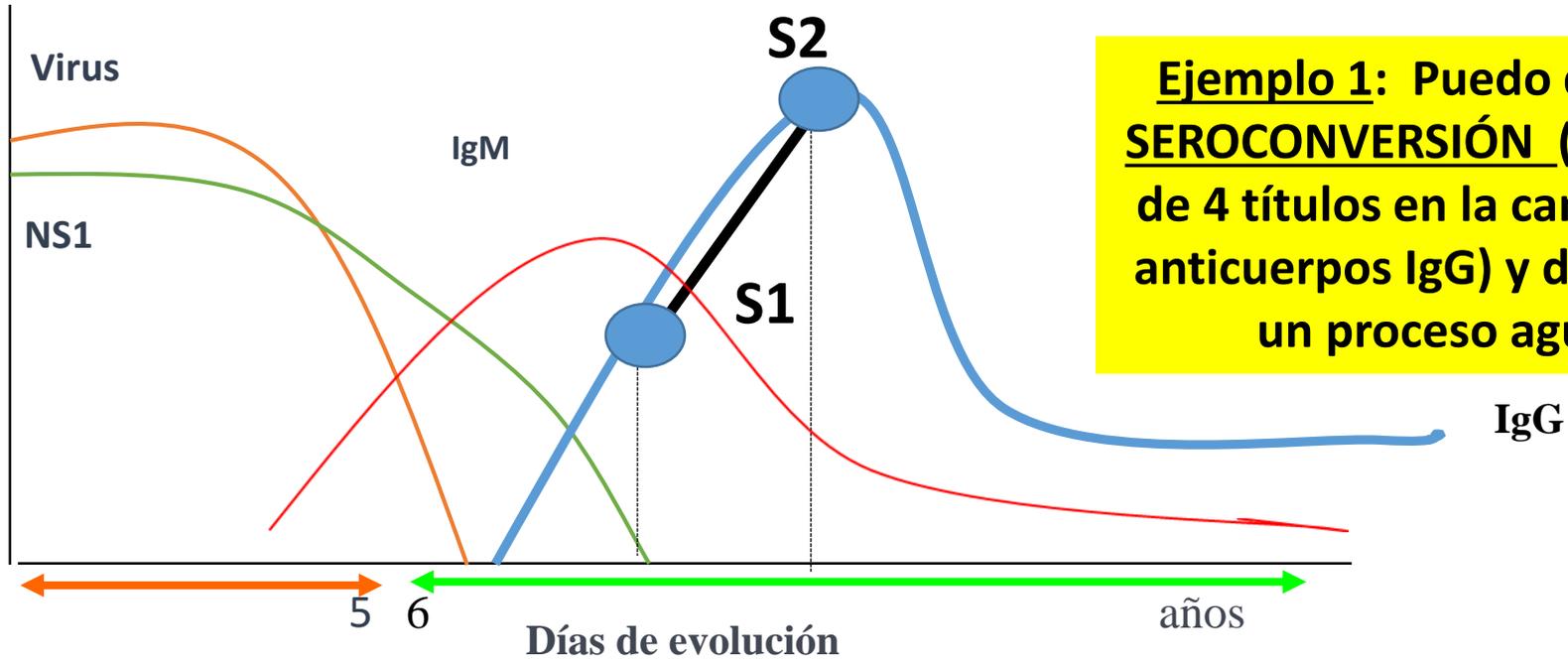
Un paciente con resultado IgM + en una región donde el virus DEN circula regularmente, requeriría la toma de una segunda muestra para evaluar IgG y serconversión (en nuestro algoritmo es por PRNT y evaluación de cruces serológico)



Oportunidad del diagnóstico

PARES DE MUESTRAS PARA CONFIRMACIÓN SEROLÓGICAS:

CUANDO TOMARLOS??



Ejemplo 1: Puedo detectar SEROCONVERSIÓN (Aumento de 4 títulos en la cantidad de anticuerpos IgG) y demostrar un proceso agudo

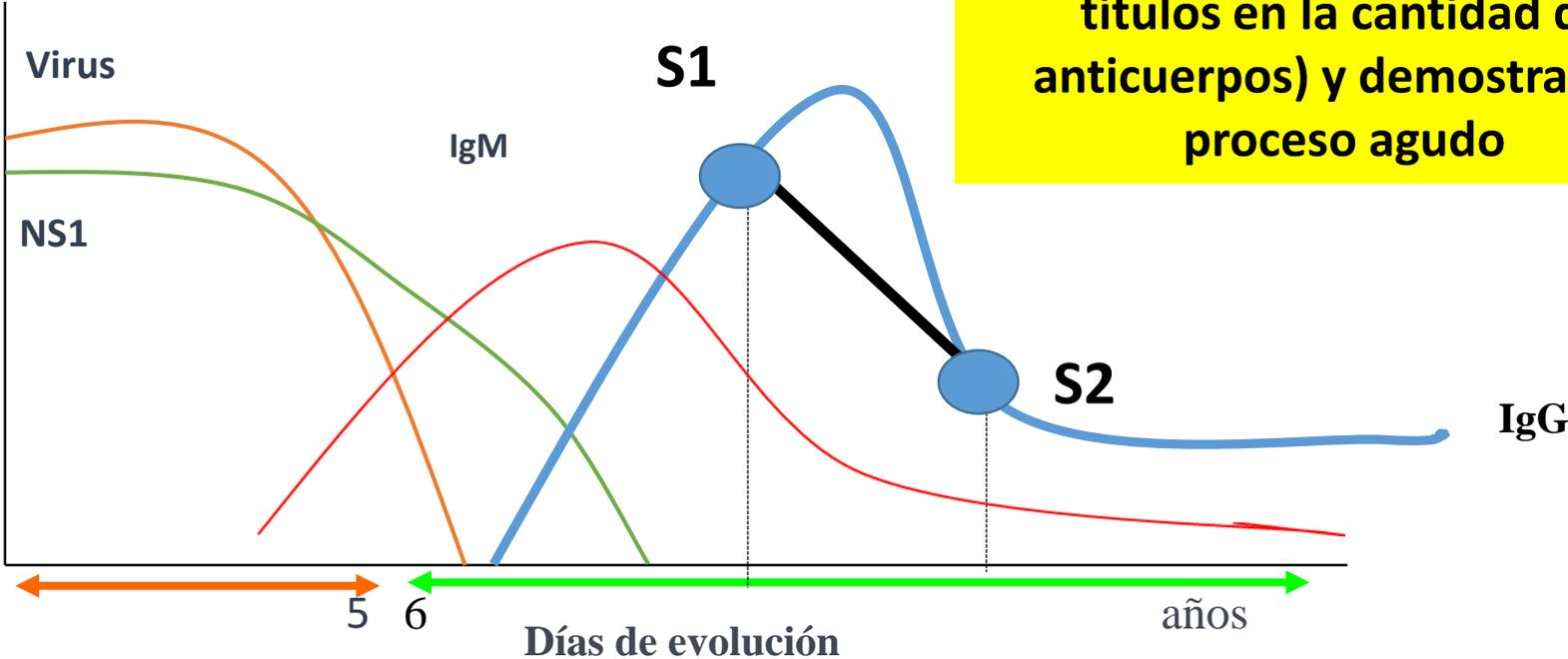
Cinética de Viremia y anticuerpos en infección primaria por Dengue

←→ Técnicas Directas

←→ Técnicas Indirectas

Oportunidad del diagnóstico

Ejemplo 2: Puedo detectar lo que se llama SEROCONVERSIÓN INVERSA (disminución de 4 títulos en la cantidad de anticuerpos) y demostrar un proceso agudo



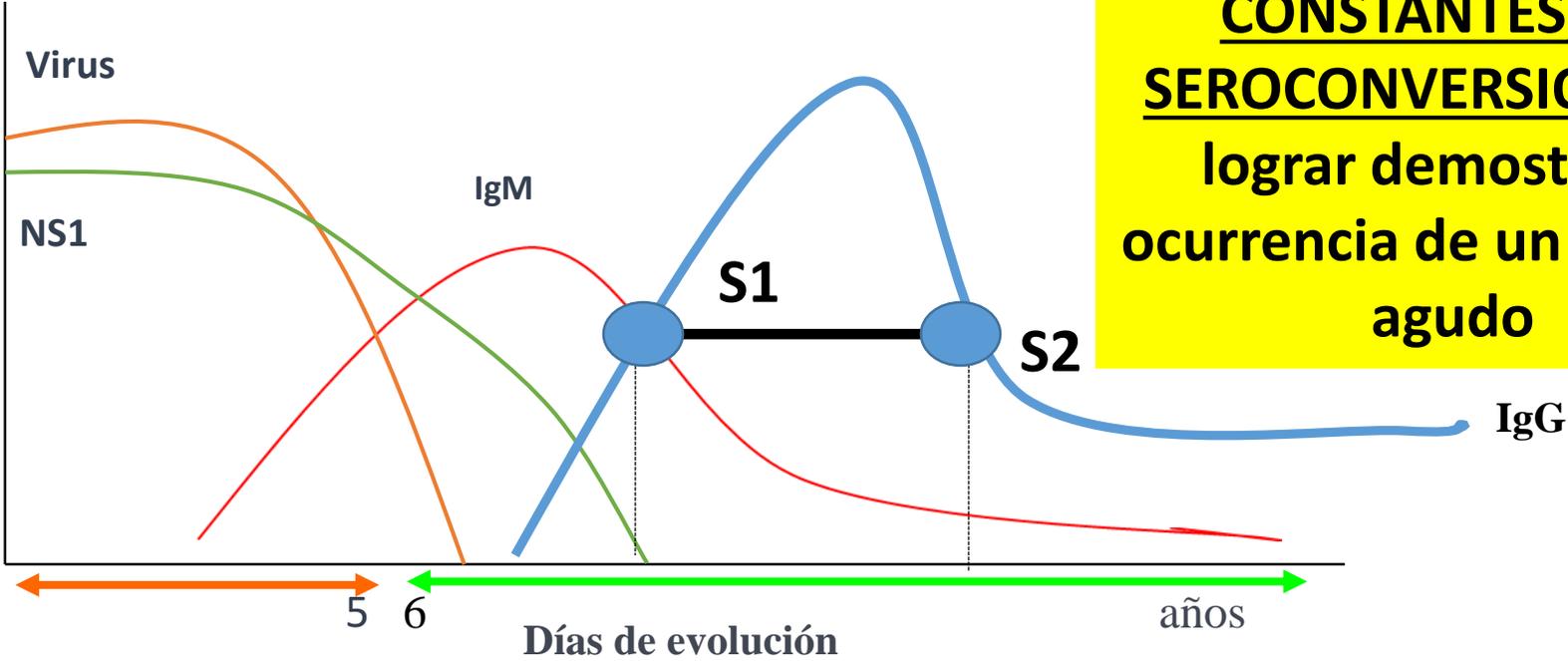
Cinética de Viremia y anticuerpos en infección primaria por Dengue

←→ Técnicas Directas

←→ Técnicas Indirectas

Oportunidad del diagnóstico

Ejemplo 3: Puedo detectar TÍTULOS CONSTANTES, SIN SEROCONVERSIÓN y no lograr demostrar la ocurrencia de un proceso agudo



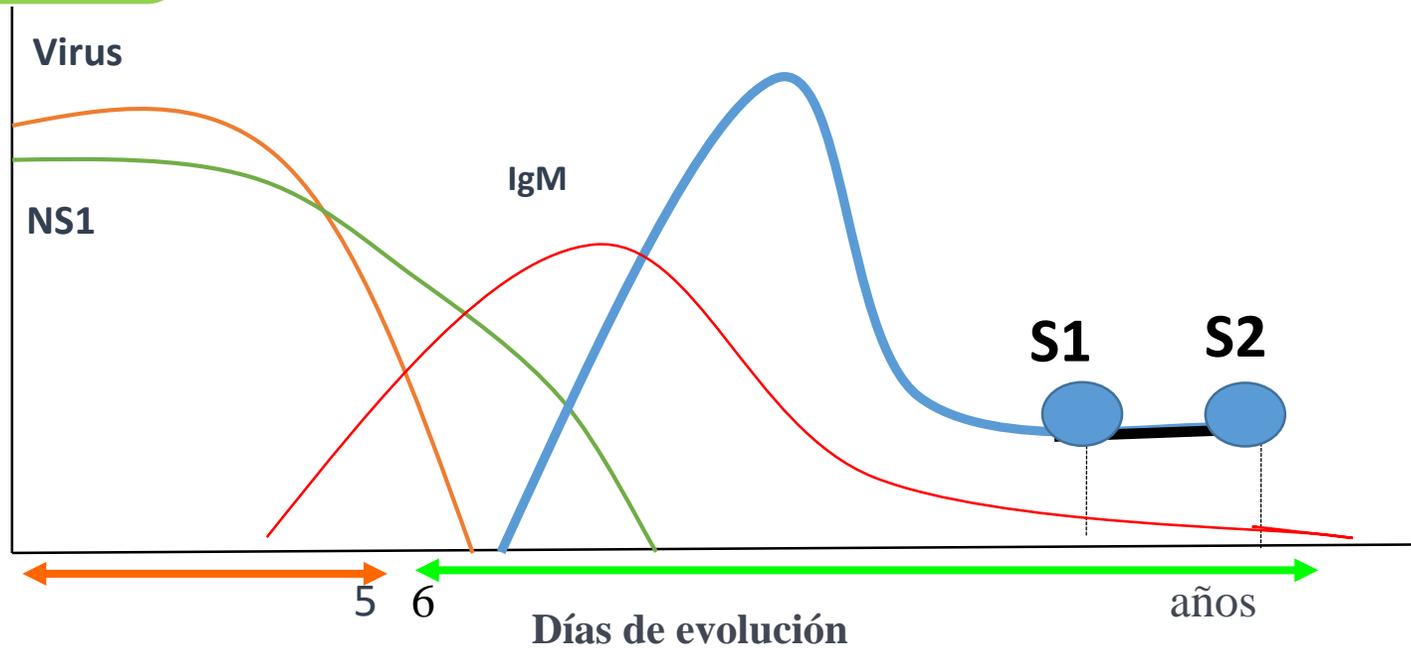
Cinética de Viremia y anticuerpos en infección primaria por Dengue

←→ Técnicas Directas

←→ Técnicas Indirectas

Oportunidad del diagnóstico

Este ejemplo se asocia a una seropersistencia de IgM /Infección Pasada



Cinética de Viremia y anticuerpos en infección primaria por Dengue

Ejemplo 4: Puedo detectar TÍTULOS CONSTANTES, SIN SEROCONVERSIÓN y eso representar una infección correspondiente al pasado. Lo más probable sería que este caso no tenga IgM o presente valores bajos si se trata de una infección no tan lejana

←→ Técnicas Directas

←→ Técnicas Indirectas

DENGUE

Algoritmo de diagnóstico y notificación de dengue a través del SNVS^{2.0}

Deberá notificarse un caso de Dengue Sospechoso en el SNVS^{2.0} -en forma inmediata-, toda vez que un laboratorio obtenga o reciba una muestra para el estudio de infección por virus dengue. Si el laboratorio notificador no realizara el estudio, deberá derivarla al referente provincial a través del SNVS 2.0

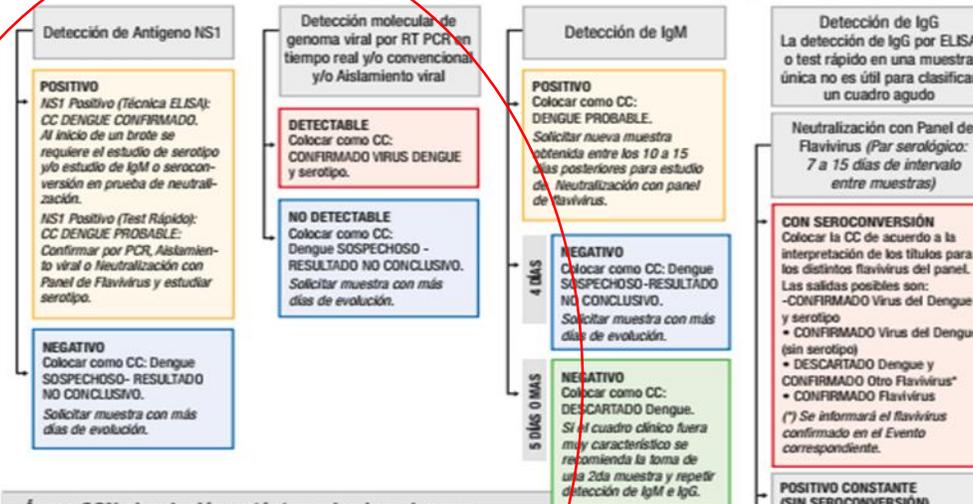
CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Si la muestra es obtenida entre los 0 a 3 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos directos (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida entre los 4 a 6 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre combinar un método indirecto (IgM) y al menos uno directo (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida con 7 o MAS DIAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos indirectos (IgM, Neutralización con Panel de Flavivirus).

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE CASO (CC)



Áreas CON circulación autóctona de virus dengue

En las que se han detectado dos casos relacionados con al menos uno de ellos SIN antecedente de viaje reciente^a a zona afectada^b y al menos uno confirmado por laboratorio; o un caso confirmado por laboratorio sin antecedente de viaje en el que la Dirección de Epidemiología provincial pueda certificar el carácter de autóctono. En este escenario NO es necesario estudiar por laboratorio a todos los casos sospechosos autóctonos. En caso de realizar la confirmación mediante la detección de antígeno NS1, debe estudiarse el serotipo de los casos al inicio del brote y continuar con el estudio de un porcentaje de los mismos, para su monitoreo y la vigilancia de la posible introducción de nuevos serotipos.

Áreas SIN circulación autóctona de virus dengue

En este escenario TODO CASO SOSPECHOSO DEBE SER ESTUDIADO POR LABORATORIO y se debe procurar concluir el diagnóstico hasta confirmar o descartar la infección. No se recomienda la aplicación de test rápidos en estas áreas. No se recomienda el uso de tests rápidos en periodos interepidémicos, su uso estaría reservado para fortalecer respuesta diagnóstica en áreas con circulación comprobada.

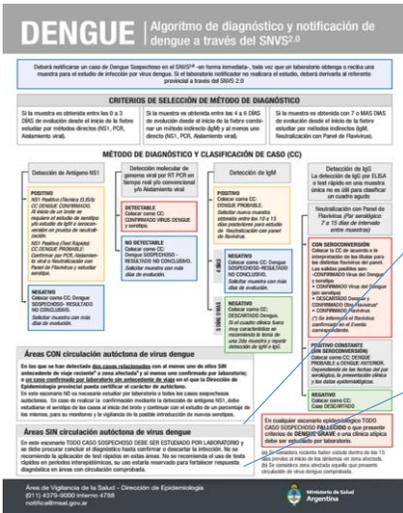
En cualquier escenario epidemiológico TODO CASO SOSPECHOSO FALLECIDO o que presente criterios de DENGUE GRAVE o una clínica atípica debe ser estudiado por laboratorio.

(a) Se considera reciente haber estado dentro de los 15 días previos al inicio de los síntomas en zona afectada.
(b) Se considera zona afectada aquella que presente circulación de virus dengue comprobada.

En el contexto de brotes recientes, la estrategia más adecuada para un diagnóstico confirmatoria de dengue sería intensificar esfuerzos para la toma de muestras de < 6 DÍAS de evolución para la aplicación de métodos directos:

- Detección Antígeno NS1
- Detección de Genoma viral por qRT-PCR

Utilización de tests rápidos para NS1- IgM e IgG dengue en laboratorios de baja complejidad con el objetivo de fortalecer la respuesta laboratorial en brote.



Áreas SIN circulación autóctona de virus dengue

En este escenario **TODO CASO SOSPECHOSO DEBE SER ESTUDIADO POR LABORATORIO** y se debe procurar concluir el diagnóstico hasta confirmar o descartar la infección. No se recomienda la aplicación de test rápidos en estas áreas. No se recomienda el uso de tests rápidos en períodos interepidémicos, su uso estaría reservado para fortalecer respuesta diagnóstica en áreas con circulación comprobada.

Orientaciones para el uso recomendado de los tests rápidos de DENGUE

- La muestra que se ha utilizado en INEVH y la RED NACIONAL para evaluar el desempeño de los mismos ha sido "SUERO". No se ha evaluado la utilización en muestra de sangre entera.
- Recomendamos que el procesamiento por esta metodología sea realizado con buenas prácticas y bioseguridad en áreas de laboratorio con la supervisión de un profesional bioquímico actualizado en los criterios de diagnóstico etiológico para dengue.
- En procesos de compra no centralizados por MSN y controlados por INEVH, recomendamos que las jurisdicciones prevean la realización de una instancia de evaluación de lotes con intervención de los laboratorios de referencia provinciales.

DENGUE | Algoritmo de diagnóstico y notificación de dengue a través del SIVIS^{2.0}

Deberá notificar un caso de Dengue Sospechoso en el SIVIS^{2.0} en forma inmediata, toda vez que un laboratorio otorga o recibe una muestra para el estudio de infección por virus dengue. Si el laboratorio notificador no realiza el estudio, deberá derivarla al referente preestablecido a través del SIVIS 2.0.

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Si la muestra es obtenida entre los 0 a 3 días de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos directos (NS1, PCR, Anticuerpo viral).

Si la muestra es obtenida entre los 4 a 6 días de evolución desde el inicio de la fiebre considerar un método indirecto (IgM) y al menos uno directo (NS1, PCR, Anticuerpo viral).

Si la muestra es obtenida con 7 o MAS días de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos indirectos (IgM, Neutralización con Panel de Flavivirus).

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE CASO (CC)

Detección de Antígeno NS1

Detección molecular de primera viral por RT-PCR en tiempo real y/o convencional y/o Anticuerpo viral.

POSITIVO
 NS1 Positivo (Fluorescencia ELISA)
 CC: DENGUE CONFIRMADO.
 Si el estudio es de un lote de muestra el estudio de serotipo por estudio de IgM o serotipado en el estudio de serotipado.

NEGATIVO
 NS1 Positivo (Fluor. Indirecto)
 CC: DENGUE PROBABLE.
 Confirmar por PCR, Anticuerpo en suero e Inmunización con Panel de Flavivirus y estudiar serotipo.

NO DETECTABLE
 NS1 Negativo
 CC: DENGUE SOSPITOSO - RESULTADO NO CONCLUSIVO.
 Solicitar muestra con más días de evolución.

Áreas CON circulación autóctona de virus dengue

En las que se han detectado dos casos clínicos con al menos uno de ellos SIN anticuerpos de origen reciente* y caso infectado** al menos uno confirmado por laboratorio, y se han confirmado por laboratorio sus antecedentes de viaje en el que la Dirección de Epidemiología previene para confirmar el carácter de autóctono.

En este escenario NO es necesario estudiar por laboratorio a todos los casos sospechosos adicionales. En caso de realizar la confirmación mediante la aplicación de antígeno NS1, debe establecerse el serotipo de los casos al inicio del lote y continuar con el estudio de un porcentaje de los mismos para su monitoreo y la vigilancia de la posible introducción de nuevos serotipos.

Áreas SIN circulación autóctona de virus dengue

En este escenario TODO CASO SOSPITOSO DEBE SER ESTUDIADO POR LABORATORIO y se debe procurar concluir el diagnóstico hasta confirmar o descartar la infección. No se recomienda la aplicación de test rápidos en estas áreas. No se recomienda el uso de tests rápidos en períodos interepidémicos, su uso estará reservado para fortalecer respuesta diagnóstica en áreas con circulación comprobada.

En cualquier momento epidemiológico TODO CASO SOSPITOSO PROBABLE que presente síntomas de DENGUE GRAVE o una clínica atípica debe ser estudiado por laboratorio.**

Si se considera necesario haber estado dentro de los 15 días previos al inicio de los síntomas en zona autóctona. Si se considera zona autóctona aquella que presente circulación de virus dengue comprobada.

Áreas de Vigilancia de la Salud - Dirección de Epidemiología
 (011) 4379-6000 interno 4788
 notificad@mat.gov.ar

Ministerio de Salud Argentina

Cómo se aplica el algoritmo cuando en alguna jurisdicción de Argentina se incorpora la vacunación para dengue?

- 2023: Aprobación por ANMAT de la vacuna Qdenga.

Vaccine. 2011 September 23; 29(42): 7251-7260. doi:10.1016/j.vaccine.2011.07.020.

Development of DENVax: A chimeric dengue-2 PDK-53-based tetravalent vaccine for protection against dengue fever

Jorge E. Osorio^{a,b,*}, Claire Y.-H. Huang^c, Richard M. Kinney^c, and Dan T. Stinchcomb^a

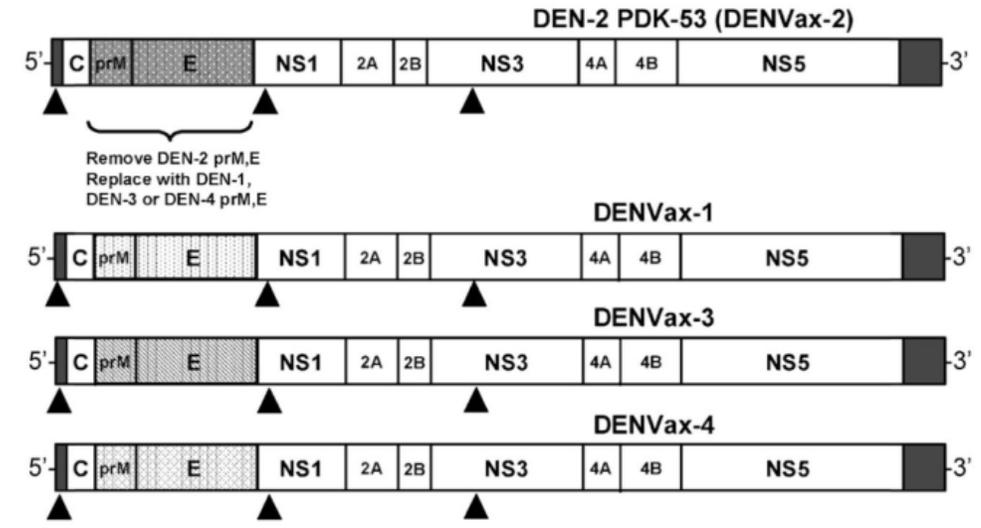


Fig. 1. Genetic structure of DENVax vaccine strains. The diagram shows the gene arrangements for the parental DEN-2 PDK-53 as well as the three chimeras, DENVax-1, -3 and -4. Arrows indicate the three pivotal mutations in DEN-2 PDK-53 that determine the attenuating phenotype of the viruses (see text). Shading indicates the origin of the prM and E genes in the chimeras. See Huang et al. [41] for details.

TAK-003 es una vacuna a virus vivo atenuado tetravalente contra el dengue

Método molecular utilizado en la red nacional para la detección y serotipificación de dengue

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES

Analytical and Clinical Performance of the CDC Real Time RT-PCR Assay for Detection and Typing of Dengue Virus

Gilberto A. Santiago, Edgardo Vergne, Yashira Quiles, Joan Cosme, Jesus Vazquez, Juan F. Medina, Freddy Medina, Candimar Colón, Harold Margolis, Jorge L. Muñoz-Jordán*

Centers for Disease Control and Prevention, Division of Vector-Borne Diseases, Dengue Branch, San Juan, Puerto Rico, United States of America

PLOS Neglected Tropical Diseases | www.plosntds.org

1

July 2013 | Volume 7 | Issue 7 | e2311



- Metodología desarrollada por CDC
- Amplificación en distintas regiones del genoma para cada uno de los serotipos
- Metodología multiplex
- Actualización de secuencias de sondas y oligonucleótidos con cepas de virus dengue de circulación reciente

Serotipo	Región del genoma
DEN-1	NS5
DEN-2	E
DEN-3	prM
DEN-4	prM

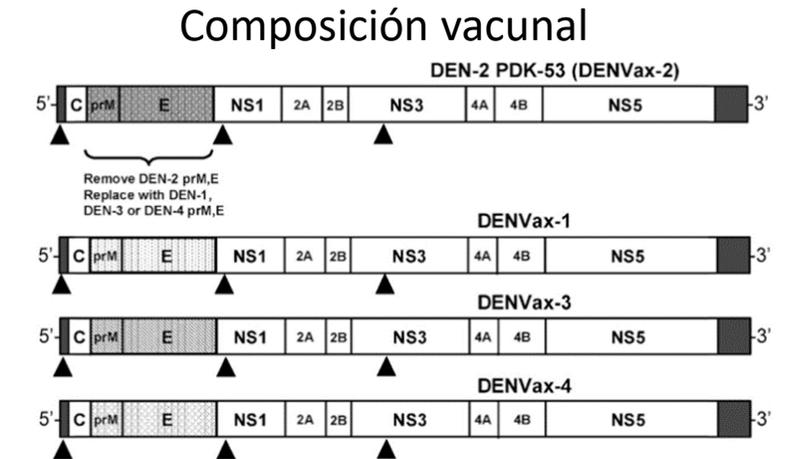


Fig. 1.

Genetic structure of DENVax vaccine strains. The diagram shows the gene arrangements for the parental DEN-2 PDK-53 as well as the three chimeras, DENVax-1, -3 and -4. Arrows indicate the three pivotal mutations in DEN-2 PDK-53 that determine the attenuating phenotype of the viruses (see text). Shading indicates the origin of the prM and E genes in the chimeras.

See Huang et al. [41] for details.

- Las sondas y primers que el reactivo usa para DENV-1 amplifican para NS5 y en la vacuna esa zona es DENV-2, por ende si estamos detectando la vacuna, no esperaríamos la curva de amplificación para DENV-1
- Las sondas y primers que se usan para DENV-2, DENV-3 y DENV-4 amplifican en regiones donde la vacuna podría ser reconocida y en consecuencia aparecer 3 curvas.
- No disponemos de información sobre cinética y carga viral de la cepa vacunal para cada serotipo en el esquema de vacunación aprobado. En literatura hay reportes de viremia detectada, sería importante solicitar al productor si cuenta con mayor detalle de la información.
- En casos positivos, recientemente vacunados, habría que pensar en una estrategia de secuenciación genómica para diferenciar cepas.

Perfiles de respuesta serológica y antigénica tras vacunación con la vacuna candidata de Takeda tetravalente contra el dengue (TAK-003) en un estudio de fase 2 aleatorizado controlado

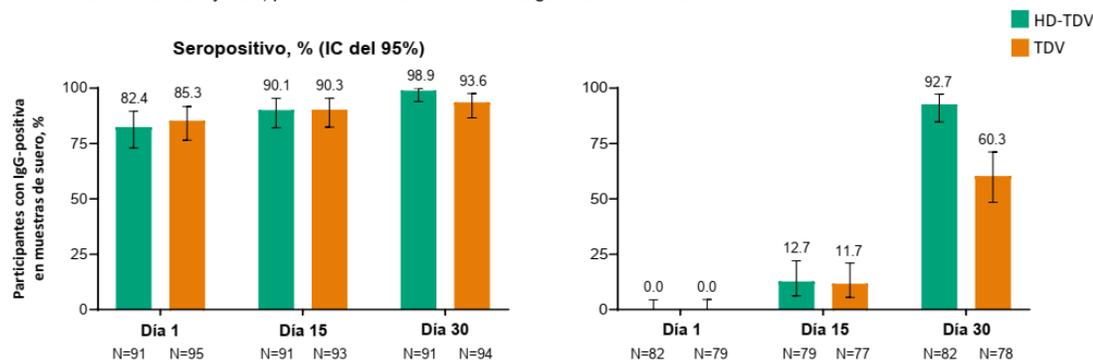
Presentado en el XX Congreso Latinoamericano de Infectología Pediátrica (SLIPE), del 30 de Octubre al 2 de Noviembre de 2023, en San José, Costa Rica

– El conjunto de acuerdo al protocolo incluyó a 173 participantes en el grupo HD-TDV y 174 en el grupo TDV (las razones para exclusión incluyeron no tener una muestra válida pre-dosis y ≥ 1 muestra válida post-dosis, o uso de medicinas/vacunas prohibidas)¹

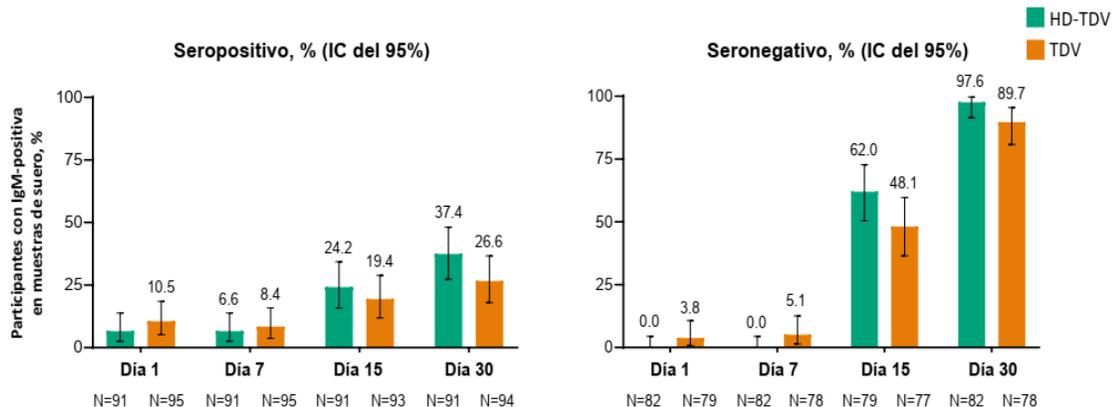
– La media de edad fue 31.1 años, 44.7% de los participantes eran hombres, 98.3% eran Asiáticos y 53.6% eran seropositivos basales

Proporción de participantes con IgG-positiva en el suero

- Las tasas de positividad para IgG fueron diferentes, segundo el estado serológico basal y entre los grupos de formulación HD-TDV y TDV, pero incrementaron de manera general del día 1 al 30



- Las tasas de positividad para IgM fueron diferentes, segundo el estado serológico basal y entre los grupos de formulación HD-TDV y TDV, pero incrementaron de manera general del día 1 al 30



- En los 30 días tras 1 dosis de TAK-003, los perfiles de IgM y IgG se parecieron a aquellos observados tras una infección natural con dengue, pero variaron por estado serológico
- Es necesario tomar en consideración el estado vacunal para dengue cuando se interpretan las pruebas serológicas de dengue porque las pruebas ELISA para IgG y IgM no pueden diferenciar entre una respuesta inmune vacunal y una respuesta a una infección natural
- El antígeno NS1 no fue detectable en ningún punto temporal tras la vacunación con base en la prueba utilizada en este estudio

El estudio de Takeda estaría planteando limitaciones para el uso de la serología IgM/ IgG como herramienta de diagnóstico para pacientes con antecedente de vacunación y no afectación para la aplicación de la detección de antígeno NS1

DENGUE

Algoritmo de diagnóstico y notificación de dengue a través del SNVS^{2.0}

Deberá notificarse un caso de Dengue Sospechoso en el SNVS^{2.0} -en forma inmediata-, toda vez que un laboratorio obtenga o reciba una muestra para el estudio de infección por virus dengue. Si el laboratorio notificador no realizara el estudio, deberá derivarla al referente provincial a través del SNVS 2.0

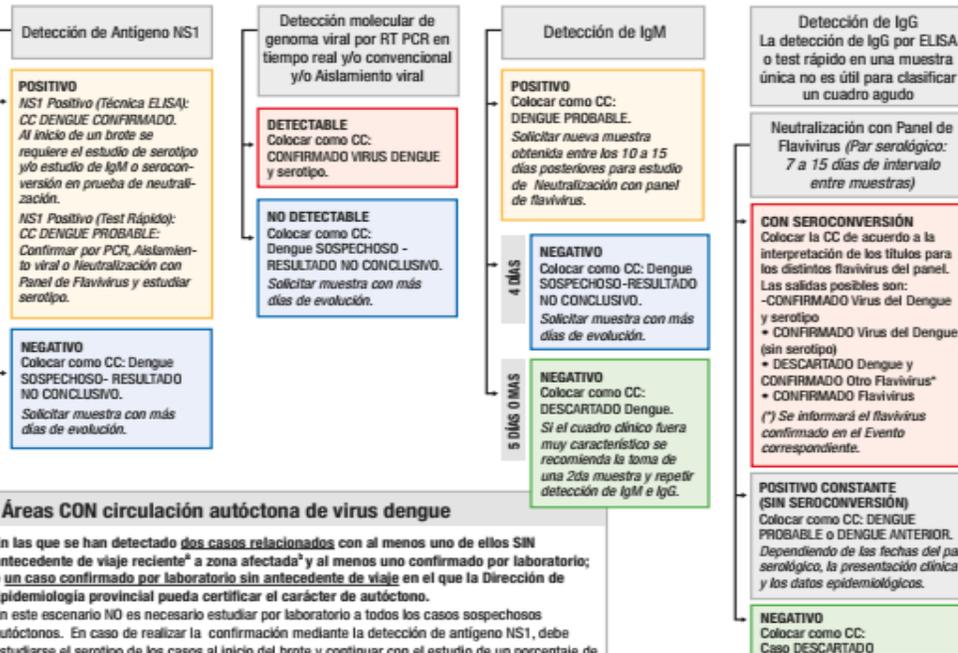
CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MÉTODO DE DIAGNÓSTICO

Si la muestra es obtenida entre los 0 a 3 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos directos (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida entre los 4 a 6 DÍAS de evolución desde el inicio de la fiebre combinar un método indirecto (IgM) y al menos uno directo (NS1, PCR, Aislamiento viral).

Si la muestra es obtenida con 7 o MAS DIAS de evolución desde el inicio de la fiebre estudiar por métodos indirectos (IgM, Neutralización con Panel de Flavivirus).

MÉTODO DE DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DE CASO (CC)



Áreas CON circulación autóctona de virus dengue

En las que se han detectado dos casos relacionados con al menos uno de ellos SIN antecedente de viaje reciente^(a) a zona afectada^(b) y al menos uno confirmado por laboratorio; o un caso confirmado por laboratorio sin antecedente de viaje en el que la Dirección de Epidemiología provincial pueda certificar el carácter de autóctono.

En este escenario NO es necesario estudiar por laboratorio a todos los casos sospechosos autóctonos. En caso de realizar la confirmación mediante la detección de antígeno NS1, debe estudiarse el serotipo de los casos al inicio del brote y continuar con el estudio de un porcentaje de los mismos, para su monitoreo y la vigilancia de la posible introducción de nuevos serotipos.

Áreas SIN circulación autóctona de virus dengue

En este escenario TODO CASO SOSPECHOSO DEBE SER ESTUDIADO POR LABORATORIO y se debe procurar concluir el diagnóstico hasta confirmar o descartar la infección. No se recomienda la aplicación de test rápidos en estas áreas. No se recomienda el uso de tests rápidos en periodos interepidémicos, su uso estaría reservado para fortalecer respuesta diagnóstica en áreas con circulación comprobada.

En cualquier escenario epidemiológico TODO CASO SOSPECHOSO FALLECIDO o que presente criterios de DENGUE GRAVE o una clínica atípica debe ser estudiado por laboratorio.

(a) Se considera reciente haber estado dentro de los 15 días previos al inicio de los síntomas en zona afectada.
(b) Se considera zona afectada aquella que presente circulación de virus dengue comprobada.

En el contexto analizado, surge que las metodologías directas en muestras de 6 o menos días de evolución:

- Detección por qRT-PCR
- Detección de Antígeno NS1 por ELISA
- Aislamiento Viral (no de rutina)
- Secuenciación genómica (cuando amerite)
- Neutralización en un % de muestras

Serán las que permitan arribar a un diagnóstico de dengue de mayor certeza

Opciones a analizar y para realizar en el contexto de un estudio de evaluación:

- Extender aplicación qRT-PCR a muestras hasta el día 8
- Hacer un estudio exploratorio sobre la aplicación de la muestra de orina entre 5-15 días para detección de genoma