











Evaluación de test rápido, análisis de parámetros de laboratorio y serotipos circulantes en pacientes con diagnóstico confirmado de dengue durante marzo - abril del 2023 en zonas de CABA y Gran Buenos Aires

Evaluation of rapid test, analysis of laboratory parameters and circulating serotypes in patients with a confirmed diagnosis of dengue during March-April 2023 in areas of Buenos Aires city and Greater Buenos Aires.

Gómez, Alejandra Gabriela^{1*}; López, Yanina¹; Soler, Jazmín¹; Losada, Graciela¹; Rabellini, Sofía¹; Tajés-Nuñez, Eugenia¹; Mogollón-Molina, Natalia¹; Ronanduan, Paula¹; Dócimo, Agustina¹; Oviedo, Florencia¹

¹Biología Molecular, Laboratorio Central, Sanatorio Dr. Julio Méndez. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Gómez, Alejandra Gabriela. Sanatorio Julio A. Méndez, Av. Nicolás, Avellaneda 551 [C.P.1405], Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; biologiamolecularesjm@gmail.com.

Resumen

Introducción: Durante marzo y abril de 2023, se registró un marcado aumento en el número de casos de dengue reportados en varias ciudades del país. En tal contexto, recopilamos y analizamos los resultados obtenidos a partir de 813 pacientes que concurren a la guardia del Sanatorio Dr. Julio Méndez con sospecha de dengue, provenientes de CABA y alrededores. **Objetivos:** Validar la prueba rápida inmunocromatográfica para el antígeno NS1 utilizado; establecer relación de positividad (RP) y serotipo circulante; analizar valores de recuento de leucocitos, plaquetas y de transaminasas de los pacientes diagnosticados con dengue. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio de tipo descriptivo y transversal recopilando los resultados de antígeno NS1, recuento de leucocitos, plaquetas y niveles de transaminasas de pacientes con sospecha de dengue que se presentaron en la guardia del Sanatorio Dr. Julio Méndez durante marzo y abril de 2023. **Resultados:** Con los 100 primeros pacientes analizados, se realizó la validación de la prueba rápida inmunocromatográfica para antígeno NS1 utilizada comparándola con el método ELISA para NS1 del Laboratorio del Hospital General de Niños Dr Ricardo Gutiérrez. La concordancia entre ambos tests fue del 99%. La RP para infección por dengue en marzo fue de 61,8% y en abril, 62,2%. El serotipo circulante prevalente fue dengue tipo 2 (DEN-2) en un 90,6%. De los 432 pacientes con dengue confirmado por laboratorio, 142 (32,8%) presentaron recuento de leucocitos normales; 251 (58,1%), leucopenia moderada y 39 (9,1%), leucopenia severa. En cuanto al recuento de plaquetas, 260 (60%) arrojaron plaquetas normales, 168 (39%), plaquetopenia moderada y 4 (1%), trombocitopenia severa. Los valores de transaminasas, en 251 casos (58,2%), resultaron normales y en 181 (41,8%), elevados. **Conclusiones:** En los pacientes analizados, encontramos mayor prevalencia de leucopenia moderada y severa que de trombocitopenia en la misma intensidad.

Palabras clave: dengue, flavivirus, dengue grave, epidemiología, leucopenia, trombocitopenia, transaminasas.

Abstract

Introduction: During March and April 2023, there was a marked increase in the number of reported dengue cases in several cities of Argentina. In this context, we collected and analyzed the results obtained from 813 patients with suspected dengue who attended the Julio Méndez Sanatorium (Buenos Aires), coming from the Buenos Aires metropolitan area. **Objectives:** i) To validate the rapid immunochromatographic test for the NS1 antigen used; ii) To establish the positivity ratio (PR) and circulating serotype; and iii) To analyze leukocyte, platelet and transaminase counts in patients diagnosed with dengue. **Results:** The rapid immunochromatographic test for NS1 antigen used was validated in the first 100 patients analyzed, comparing it with the ELISA method for NS1 from the Ricardo Gutierrez National Hospital Laboratory (Buenos Aires). The agreement between both tests was 99%. The PR for dengue infection in March was 61.8%, whereas that in April was 62.2%. In 90.6% of the patients, the prevalent circulating serotype was dengue type 2 (DEN-2). Of the 432 patients with laboratory-confirmed dengue, 142 (32.8%) had normal leukocyte counts, 251 (58.1%) had moderate leukopenia, and 39 (9.1%) had severe leukopenia. Regarding the platelet count, 260 (60%) showed normal platelets, 168 (39%) had moderate thrombocytopenia and 4 (1%) showed severe thrombocytopenia. Transaminase values were normal in 251 cases (58.2%) and high in 181 (41.8%). **Conclusions:** In the patients analyzed, the prevalence of moderate and severe leukopenia was higher than that of thrombocytopenia of the same intensity.

Key words: dengue, flavivirus, severe dengue, epidemiology, leukopenia, thrombocytopenia, transaminases.

Introducción

El dengue es una infección vírica que se transmite de los mosquitos a las personas más frecuentemente en las regiones de climas tropicales y subtropicales. Cada año se producen entre 100 y 400 millones de infecciones en el ámbito mundial. Se utilizan medicamentos que alivian el dolor y la fiebre, pero, por el momento, no hay tratamiento específico.¹

En una primera etapa, los síntomas pueden involucrar: fiebre elevada (40°C), dolor de cabeza intenso, dolor retroocular, dolores musculares y articulares, náuseas, vómitos, adenopatías y sarpullido, aunque la enfermedad puede ser cursada de manera asintomática. Cuando desaparece la fiebre, pueden presentarse síntomas del dengue grave como dolor abdominal intenso, vómitos persistentes, respiración acelerada, hemorragias en las encías o la nariz, cansancio, agitación, vómitos o heces con sangre, sed intensa, piel pálida y fría, debilidad general¹.

Las metodologías disponibles hasta el momento para realizar el estudio de este virus, según el Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas Emergentes y Zoonóticas (NCEZID, por sus siglas en inglés) incluyen: técnicas inmunocromatográficas para detección de anticuerpos (tipo IgG e IgM) y del antígeno NS1; técnicas inmunoenzimáticas (EIA o ELISA) para detección de anticuerpos (tipo IgG o IgM) y del antígeno NS1; técnicas de inmunofluorescencia (FIA) para detección del antígeno NS1; técnicas de biología molecular para amplificación de ácidos nucleicos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) *real time*, destinadas a la detección del genoma viral y la tipificación de serotipos.

Los diferentes serotipos del virus del dengue se transmiten a los humanos mediante picaduras de mosquitos *Aedes* (Ae) infectados, principalmente de *Aedes aegypti*.

El virus del dengue (DENV) existe en forma de cuatro serotipos, DENV 1, 2, 3 y 4 (DENV 1-4). La infección con un serotipo conduce a inmunidad de largo término hacia esa variante. Durante un corto período, también se manifiesta protección cruzada contra los otros tres², seguido este de un lapso indeterminado durante el cual la infección con otro serotipo puede conducir a enfermedad grave³.

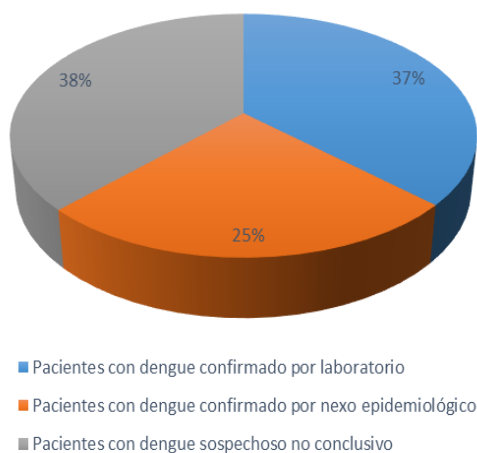
Luego de la picadura del mosquito, el virus se disemina por el sistema linfático hacia estómago, timo, pulmón, tracto gastrointestinal, hígado, riñón y cerebro.⁴ Se generan apoptosis y necrosis celular; esta libera productos tóxicos que activan los sistemas de coagulación y fibrinólisis. El proceso de hematopoyesis se deprime y resulta en una disminución de plaquetas y leucocitos en sangre. Por lo tanto, en la mayoría de los casos, se esperan resultados de laboratorio con elevación de las transaminasas, hepatomegalia y recuentos plaquetarios disminuidos.

Las pruebas de laboratorio más comunes para medir las alteraciones de la coagulación son el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo parcial de tromboplastina (TPT), las cuales muestran asociación entre sus resultados y el sangrado espontáneo en dengue.⁵

La alta carga viral en sangre, el tropismo por las células

Figura 1. Clasificación de los pacientes estudiados durante el mes de abril de 2023 según los resultados de dengue obtenidos.

Pacientes con sospecha de dengue abril 2023 Total (n=284)



endoteliales y la disfunción plaquetaria por la trombocitopenia generan alta fragilidad capilar, que puede causar dengue severo hemorrágico (DSH) y manifestaciones clínicas como petequias, hematomas, sangrado gastrointestinal. También, los megacariocitos infectados son destruidos por los anticuerpos generados.^{2,3,6}

En los pacientes con fiebre de dengue (FD), se manifiesta una leucopenia moderada. La misma es atribuida a la depresión de las células mielopoyéticas por el virus^{7,8}, el cual aumenta la permeabilidad capilar provocando pérdida de fluidos, que puede conducir a shock hipovolémico y falla multiorgánica.^{4,7-9}

La mayoría de los casos hospitalizados en las regiones donde circulan los cuatro serotipos se debe a infecciones posteriores a la primaria. Una teoría para el aumento de la severidad de la enfermedad es la acción de anticuerpos no neutralizantes unidos al virus, los que facilitan la entrada a las células a través de receptores de fragmento Fc, favoreciendo la replicación viral.¹⁰

Los objetivos de este estudio fueron: a) Determinar las características analíticas del test rápido utilizado para diagnóstico de dengue marca ALL TEST, método inmunocromatográfico de observación visual directa, b) Establecer la relación de positividad de los pacientes estudiados en el Sanatorio Dr. Julio Méndez con sospecha de dengue, c) Caracterizar los valores de recuento de leucocitos, plaquetas y transaminasas de los pacientes con diagnóstico confirmado de dengue y d) Identificar los serotipos circulantes.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio de tipo descriptivo y transversal recopilando los resultados de antígeno NS1, recuento

de leucocitos, plaquetas y niveles de transaminasas de pacientes adultos y pediátricos con sospecha de dengue que se presentaron en la guardia del Sanatorio Dr. Julio Méndez entre el 01/03/2023 y el 30/04/2023. El estudio fue aprobado por el Comité de Docencia e Investigación del sanatorio.

A todos los pacientes se les hizo una anamnesis y se les confeccionó una ficha epidemiológica, obtenida de la página del Ministerio de Salud de la Nación para "Síndrome Febril Agudo Inespecífico".¹¹ Además, se les realizó hemograma, hepatograma y la investigación del Antígeno NS1 y de anticuerpos IgM anti-DENV (anticuerpos antiviral de dengue) por inmunocromatografía a todos los pacientes que concurren a la guardia entre el día 1 y 10 de iniciados los síntomas (FIS). En el caso de NS1 positivo, se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para identificación de los serotipos 1, 2, 3 o 4.

Los hemogramas se realizaron en los contadores hematológicos SYSMEX XN 1000 y SYSMEX XP 300 con reactivos marca Sysmex. Los hepatogramas se realizaron con COBAS C 501/ COBAS 6000 v2 de Roche y COBAS C 311. Se utilizaron tests rápidos de antígeno NS1 y anticuerpos IgM e IgG realizados con marca ALL TEST, método de inmunocromatografía, observación visual. Los datos aportados por el fabricante indican: sensibilidad (S)=94,3% [87,2%-98,1%] y especificidad (E)=99,1% [87,7%-99,7%].

Para fines confirmatorios, a los primeros 100 pacientes analizados por test de inmunocromatografía se les tomó una muestra adicional de suero y plasma con EDTA para realizar NS1 por método *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) y eventual PCR de serotipo en el laboratorio de referencia de la Ciudad de Buenos Aires.

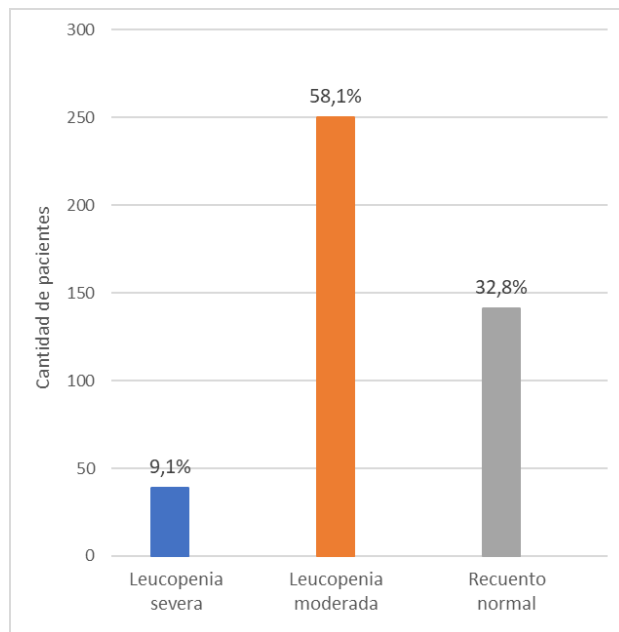
La confirmación de los tests de antígeno NS1 se realizó con el método ELISA de captura en microplaca para detección de antígenos NS1 del virus de dengue, PLATELIA Dengue NS1 Ag, Biorad, cuyas características, indicadas por el fabricante, son S=91% [85,8%-94,8%], E=100% [99,4%-100%]. La confirmación de la detección de anticuerpos IgM para dengue se realizó por ELISA de captura en microplaca para detección de IgM DENV, Panbio, Abbott Diagnostics S=94,7%, E=100% con el lector de microplacas ELISA: Awareness Technology Inc., Sta Fax-2100,

La reacción de RT-PCR en tiempo real en formato Multiplex se realizó con sondas Taqman para detección de DENV1-4, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2013. S=97,9% [89,1%-99,6%], E=100% [90,8%-100%].

A las muestras NS1 negativas con alta sospecha clínica de padecer enfermedades transmisibles por mosquitos *Aedes* (ETMAa), se les realizó PCR para chikungunya, RT-PCR en tiempo real en formato Multiplex con sondas Taqman para detección de chikungunya, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2007. S=97,9% [89,1%-99,6%], E=100% [90,8%-100%] (HNRG). Para realizar las RT-PCR se utilizaron cicladores CFX96, Biorad.

Los análisis estadísticos y los gráficos se realizaron con el programa Microsoft Excel 2013.

Figura 2. Pacientes clasificados según los valores de leucocitos medidos al momento del ingreso.



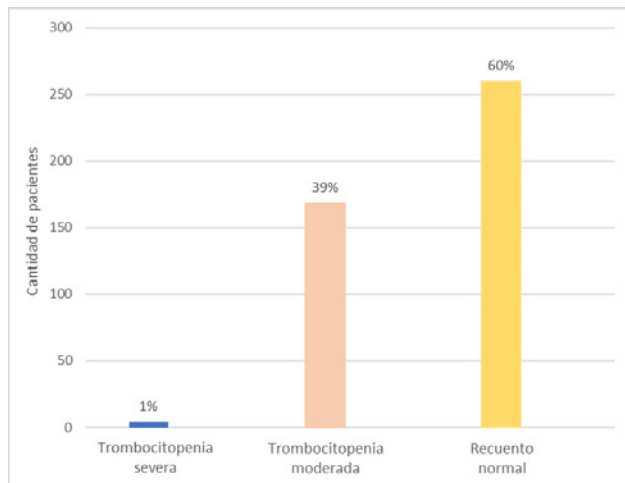
► Leucopenia severa ($<2,5 \times 10^3$ leucocitos/mL), leucopenia moderada ($2,5$ a $4,49 \times 10^3$ leucocitos/mL) y recuento de leucocitos normales ($>4,5 \times 10^3$ leucocitos/mL).

Resultados

Se analizaron 813 muestras que correspondieron a 570 adultos y 243 niños, 487 mujeres y 326 varones, con sospecha de dengue. De las primeras 100 muestras analizadas, 62 fueron positivas y 38, negativas para NS1, provenientes de 60 mujeres y 40 varones entre 2 y 93 años; procesadas para NS1 por inmunocromatografía, y enviadas al laboratorio de referencia HNRG para confirmación por método ELISA, se obtuvo concordancia del 99 % en los resultados obtenidos. Siguiendo con el algoritmo utilizado al inicio de la epidemia, suministrado por el Ministerio de Salud del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires, a las muestras positivas para NS1, se les realizó PCR para dengue con el objetivo de identificar su serotipo, y a las negativas con alta sospecha de padecer enfermedades transmisibles por mosquitos *Aedes* (ETMAa), se les realizó PCR para chikungunya.

Durante el mes de marzo, todas las muestras recibidas de pacientes con sospecha de dengue fueron analizadas, y se obtuvo una tasa de positividad de 61,8 %. En el mes de abril, debido a la escasa disponibilidad de reactivos para diagnóstico en CABA por la alta demanda de testeos en pacientes sintomáticos, entre los días 3 y 13 de abril de 2023, los pacientes con sospecha de dengue que residían en los barrios con alta circulación viral (Flores, Floresta, Liniers, Mataderos, Monte Castro, Palermo, Parque Avellaneda, Versalles, Vélez Sarsfield, Villa Devoto, Villa del Parque, Villa Lugano, Villa Luro y Villa Santa Rita), se clasificaron como "caso confirmado por nexo epidemiológico", según

Figura 3. Pacientes clasificados en función de los valores de plaquetas obtenidos en el momento de ingreso.



► Trombocitopenia severa (<75x10³ plaquetas/mL), trombocitopenia moderada (75 a 150x10³ plaquetas/mL) y recuento de plaquetas normales (>150x10³ plaquetas/mL).

lo dispuesto por la resolución NO-2023-13796458-GCABA-SSPSGER del Gobierno de CABA y según informes de la Dirección Provincial de Epidemiología de Buenos Aires.^{12,13} Solo 1 de cada 20 pacientes clasificados por este criterio fueron enviados para identificación de serotipos por PCR al HNRG, según algoritmo sugerido. Considerando ambos criterios (resultados de laboratorio y nexos epidemiológicos), la tasa de positividad fue del 62,3 % para abril.

De 284 pacientes con sospecha de dengue, se confirmaron 177 casos (62,2 %), 105 (36,2 %), por laboratorio, y por nexos epidemiológicos, 72 (25,3 %); 107 fueron clasificados como “dengue sospechoso no conclusivo”, lo que representa un porcentaje del 37,8 %. (Figura 1)

Durante el período estudiado (marzo y abril de 2023), el serotipo más prevalente en las muestras en nuestra institución fue el dengue tipo 2 (DENV 2) con un porcentaje de 90,6 %, seguido de dengue tipo 1 (DENV 1) con un 9,4 %, coincidente con los reportes de las respectivas jurisdicciones de procedencia de los pacientes en la región del AMBA.^{12,13}

En la Figura 2, se observan los resultados de recuento de leucocitos: 142 pacientes (32,8 %) presentaron valores normales; 251 pacientes (58,1 %), leucopenia moderada y 39 (9,1 %), leucopenia severa. En cuanto a las plaquetas, 260 pacientes (60 %) presentaron recuento normal; 168 (39 %), trombocitopenia moderada y solo 4 pacientes (1 %), trombocitopenia severa (Figura 3).

Cabe señalar que varios pacientes que cursaban la enfermedad por dengue con recuento de plaquetas de alrededor de 160.000/mm³ arrojaban resultados anteriores en el Sistema de Laboratorio del orden de 320.000/mm³ plaquetas, en estudios de control. Los mismos hallazgos se observaron en pacientes que mostraban disminución en el recuento de leucocitos a la mitad de sus datos históricos.

En los pacientes con dengue confirmado por laboratorio con NS1 positivo tanto por inmunocromatografía como por ELISA, las transaminasas arrojaron valores elevados en 181 (41,8 %), en un rango observado de 34 hasta 450 UI/l.

Solo un 5 % de los pacientes requirió hospitalización, tratándose de personas con varias comorbilidades (diabetes, obesidad, hipertensión, inmunosuprimidos). En estos, no se pudo confirmar si correspondían a una primera infección o subsiguientes, dado que no contábamos con un método robusto para detección de IgG para dengue. El 95 % de los casos restantes resolvió el evento de forma ambulatoria, con síntomas que duraron entre 7 y 15 días.

Dentro de este bimestre marzo - abril, en aquellos pacientes que presentaron fiebre persistente, mialgias, artralgias, con o sin derrame ocular y resultado negativo para dengue, se realizó detección por PCR para virus chikungunya. En consecuencia, se estudiaron por PCR 74 pacientes (56 en marzo, 18 en abril), de los cuales 6 arrojaron resultado detectable. A su vez, 2 de estos pacientes no tenían antecedentes de viaje previo, y, en consecuencia, se confirmó circulación viral de este flavivirus.

Discusión

La leucopenia y trombocitopenia son alteraciones ampliamente asociadas a la infección por DENV.¹⁴ Hay evidencia clínica sobre el compromiso hepático en esta infección, que incluye hepatomegalia y aumento de transaminasas. Este aumento tiende a normalizarse en los 14 a 21 días posteriores a la infección.¹⁵

Si bien la trombocitopenia es una de las alteraciones más documentadas¹⁶, la mayoría de los pacientes de este estudio presentaron valores de plaquetas normales (59,5 %). Sin embargo, estos valores resultaron significativamente menores que los recuentos previos de control. Ante esta evidencia, se resalta la importancia de analizar los valores obtenidos en el contexto de los antecedentes del paciente. Aunque la trombocitopenia suele mencionarse como el indicador más frecuente en la enfermedad aguda, en este estudio se observó que la leucopenia tanto moderada como severa se presentó con mayor frecuencia.

En cuanto a las transaminasas, en el 58,2 % de los casos arrojaron valores normales y en el 41,8 %, elevados, independientemente de los resultados de leucocitos y plaquetas, siendo a veces el único parámetro alterado. Este hallazgo puede deberse a que, como se mencionó anteriormente, los recuentos de plaquetas y leucocitos pueden encontrarse dentro del rango de referencia, a pesar de haber disminuido a la mitad del valor en estudios previos de control, fuera de la etapa de fiebre por dengue.

Referencias bibliográficas

1. OMS. Dengue y dengue grave [Internet]. 2023. [Consultado jun 24]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
2. Anderson KB, Gibbons RV, Cummings DA, Nisalak A, Green S, Libraty DH, et al. A shorter time interval between first and second dengue in-

- fections is associated with protection from clinical illness in a school-based cohort in Thailand. *J Infect Dis.* 2014;209(3):360-8, <https://doi.org/10.1093/infdis/jit436>
3. Halstead SB, Nimmannitya S, Cohen SN. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. IV. Relation of disease severity to antibody response and virus recovered. *Yale J. Biol Med.* 1970;42(5):311-28. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2591704/>
 4. Begum F, Das S, Mukherjee D, Mal S, Ray U. Insight into the Tropism of Dengue Virus in Humans. *Viruses.* 2019; 11(12):1136, <https://doi.org/10.3390/v11121136>
 5. Díaz-Quijano F. Predictores de sangrado espontáneo en dengue: una revisión sistemática de la literatura. *Invest. clín* [Internet]. 2008. [citado 2023 Dic 04]. 49(1):111-122. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=372937670012>
 6. Hannaoui R, Erika J, Sulbarán MZ, Campos MA. Características clínicas y parámetros hematológicos de pacientes con fiebre dengue y mononucleosis infecciosa. *Kasmera.* 2005;33(2):93-101.
 7. Zerfu B, Kassa T, Legesse M. Epidemiology, biology, pathogenesis, clinical manifestations, and diagnosis of dengue virus infection, and its trend in Ethiopia: a comprehensive literature review. *Trop Med Health.* 2023;51(1):11, <https://doi.org/10.1186/s41182-023-00504-0>
 8. Pang X, Zhang R, Cheng G. Progress towards understanding the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Virol Sin.* 2017;32(1):16-22, <https://doi.org/10.1007/s12250-016-3855-9>
 9. Bhatt P, Sabeena SP, Varma M, Arunkumar G. Current Understanding of the Pathogenesis of Dengue Virus Infection. *Curr Microbiol.* 2021;78(1):17-32, <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02284-w>
 10. Morens D. Antibody-Dependent Enhancement of Infection and the Pathogenesis of Viral Disease. *Clin Infect Dis.* 1994;19(3):500-12, <https://doi.org/10.1093/clinids/19.3.500>
 11. Ficha Síndrome Febril Agudo Inespecífico (SFAI). Ministerio de Salud de la Nación. [Internet]. 2016. [citado ene 24]. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2019/10/ficha_epidemiologica_sfai_en_area_no_endemica_de_fha.pdf
 12. Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Boletín epidemiológico semanal. Boletín N° 346, Año 8, SE12. [Internet] 2023. Disponible en: <https://buenosaires.gob.ar/salud/boletines-epidemiologicos-semanales-2023>
 13. Boletín Informativo Marzo 2023. Dirección Provincial de Epidemiología. [Internet] 2023. Disponible en: https://www.ms.gba.gov.ar/sitios/media/files/2023/04/Bolet%C3%ADn-epidemiol%C3%B3gico_12.pdf
 14. Kittigul L, Pitakarnjanakul P, Sujirarat D, Siripanichgon K. The differences of clinical manifestations and laboratory findings in children and adults with dengue virus infection. *J Clin Virol.* 2007;39(2):76-81, <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.04.006>
 15. Seneviratne SL, Malavige GN, de Silva HJ. Pathogenesis of liver involvement during dengue viral infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006;100(7):608-14, <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2005.10.007>
 16. Low GKK, Jiee SF, Masilamani R, Shanmuganathan S, Rai P, Manda M et al. Routine blood parameters of dengue infected children and adults. A meta-analysis. *Pathogens and Global Health.* 2023;117(6):565-589, <https://doi.org/10.1080/20477724.2022.2161864>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.