

Evaluación de la prueba de IgM en suero agudo para el diagnóstico del dengue en un área endémica*

Fredi Alexander Díaz-Quijano^a, Ruth Aralí Martínez-Vega^a, Raquel Elvira Ocazionez^b y Luis Ángel Villar-Centeno^a

^aCentro de Investigaciones Epidemiológicas, Universidad Industrial de Santander (UIS). ^bCentro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales, UIS. Bucaramanga, Colombia.

Se evaluaron las características operativas de la prueba de ELISA-IgM específica para dengue en el suero agudo de 167 pacientes con dengue y 225 con síndrome febril agudo de otra etiología. La prueba evidenció sensibilidad: 29,9%; especificidad: 99,1; valor predictivo positivo (VPP): 96,2%; valor predictivo negativo: 65,6%. Por su especificidad y VPP altos, un resultado positivo de la prueba podría soportar con alta certeza el diagnóstico de dengue en áreas endémicas; un resultado negativo requeriría estudios complementarios.

Palabras clave: Dengue. Diagnóstico de Laboratorio. Detección de IgM. Síndrome febril agudo.

Evaluation of IgM determination in acute serum for the diagnosis of dengue in an endemic area

We evaluated the clinical usefulness of dengue IgM detection in acute serum using an ELISA test in 167 patients with dengue and 225 patients with acute febrile syndrome of another etiology. The sensitivity of the test was 29.9%, specificity was 99.1%, positive predictive value was 96.2%, and negative predictive value was 65.6%. Because of the test's high specificity and positive predictive value, a positive result could support a diagnosis of dengue in endemic areas with a high degree of certainty; a negative result would require complementary studies.

Key words: Dengue. Laboratory diagnosis. IgM detection. Acute febrile syndrome.

Correspondencia: Dr. F.A. Díaz-Quijano.
Centro de Investigaciones Epidemiológicas. Facultad de Salud UIS.
Cr. 32 N° 29-31 Tercer Piso. Bucaramanga. Colombia.
Correo electrónico: fre_diazq@yahoo.com

*Declaración: Los autores declaramos que no existe un posible conflicto de intereses en este manuscrito.

Financiación: Este estudio fue realizado en la cohorte de pacientes del proyecto 1102-04-12919, cofinanciado por COLCIENCIAS y la Universidad Industrial de Santander.

Manuscrito recibido el 25-11-2004; aceptado el 7-3-2005.

Introducción

El dengue es la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importante en todo el mundo. Se presenta en más de 100 países y territorios y constituye una amenaza para la salud de más de 2.500 millones de personas en las regiones tropicales y subtropicales¹. Existen cuatro serotipos del virus dengue (DEN-1 a 4), cada uno con la capacidad de producir enfermedad²⁻⁶.

La mayoría de los enfermos sufren dengue clásico, una condición febril autolimitada. Sin embargo, una proporción variable de pacientes evoluciona hacia dengue hemorrágico, caracterizado por sangrado espontáneo, trombocitopenia y extravasación del plasma². Una forma más grave aún es el *síndrome de choque por dengue* con hipotensión refractaria, condición asociada a una mayor frecuencia de complicaciones y mortalidad².

En el diagnóstico del dengue, se consideran pruebas confirmatorias de la infección: el aislamiento del virus, la detección de antígenos o de secuencias genómicas virales en muestras tales como suero, líquido cefalorraquídeo o tejidos de autopsia. Para estudiar el suero de fase aguda, el aislamiento viral y la detección del genoma amplificado constituyen el *gold standard*, siendo esta última una prueba útil para mejorar la sensibilidad y reducir el tiempo requerido para detectar el virus. Sin embargo, la implementación de esta tecnología es compleja^{7,8}.

Una alternativa son las pruebas serológicas: cuando se cuenta con muestras séricas pareadas (de fase aguda y convaleciente), un aumento importante de los títulos de anticuerpos IgG o IgM contra uno o varios antígenos del virus del dengue confirma el diagnóstico¹. La necesidad de una segunda muestra de suero para la confirmación serológica del diagnóstico se basa en que los anticuerpos IgM pueden ser detectables, en promedio, hasta 2 meses después de una infección². Durante este período una enfermedad febril generada por otros patógenos emergentes podría simular al dengue^{3,4}. De esta manera, los anticuerpos IgM detectados en un único suero podrían reflejar una infección pasada, generando falsos positivos. Tampoco un resultado negativo descarta la infección si la muestra es tomada en fases muy tempranas de la enfermedad, cuando la sensibilidad de la prueba es baja².

A pesar de lo expuesto, en Colombia como en otras partes del mundo, es común observar que la vigilancia epidemiológica del dengue se sustenta en una sola prueba de IgM por paciente^{5,6,9,10}. La dificultad para obtener una segunda muestra en la convalecencia hace deseable conocer la utilidad diagnóstica de las pruebas realizadas en la fase

aguda de la enfermedad. En este trabajo, se evalúa la validez de la prueba de IgM realizada entre el tercer y cuarto día del síndrome febril, como una alternativa práctica para el diagnóstico del dengue.

Métodos

Lugar

Área metropolitana de Bucaramanga, Colombia.

Período

Abril de 2003 a julio de 2004.

Población

Pacientes mayores de 2 años de edad, con síndrome febril agudo (SFA), captados en las primeras 96 h de enfermedad, con dos o más de las siguientes manifestaciones: cefalea, dolor retroorbitario, mialgia, artralgia, erupción cutánea, manifestaciones hemorrágicas y leucopenia¹.

Los pacientes incluidos en este trabajo hacen parte de una cohorte concurrente de un estudio observacional, en el que se realiza seguimiento domiciliario diario al menos hasta el séptimo día de enfermedad.

Criterios de exclusión

1. Estados de inmunosupresión por diabetes, sida o ingestión aguda o crónica de glucocorticoides, así como cirrosis e insuficiencia cardíaca o renal.
2. Evidencia clínica de otro proceso infeccioso que explique de forma parcial o total la enfermedad actual, obtenida mediante anamnesis y/o examen físico.

Pruebas de laboratorio

De cada paciente se tomaron muestras de suero de fase aguda (entre las primeras 48 y 96 h de enfermedad) y convaleciente (entre el día 7 y 15) que se almacenaron a -70 °C, para posteriormente realizar las pruebas de detección de IgM específica para dengue por el método de análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Se empleó un sistema de ensayo de captura (MAC-ELISA) adaptado en nuestro laboratorio de virología (Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales. UIS).

Se intentó el aislamiento viral en pacientes IgM positivos en el suero de la convalecencia y en quienes no se pudo obtener esta muestra. Para el aislamiento del virus se practicó el cultivo de células de mosquito *Aedes albopictus* (clón C6/36) empleando las muestras de fase aguda. Estas muestras permanecieron almacenadas a -70 °C por 30 a 90 días antes del ensayo del cultivo viral.

Definiciones

Se consideró infección aguda por dengue cuando se obtuvo un aislamiento viral y/o cuando se documentó una cuadriplicación o aumento mayor (incluyendo la seroconversión) de los títulos de anticuerpos IgM contra dengue en las muestras séricas pareadas.

Los pacientes IgM negativos en el suero de la convalecencia o aquéllos sin aumento de los títulos de anticuerpos, ni aislamiento del virus, se consideraron casos de SFA no causados por dengue (SFA no dengue).

Los casos en los que no se obtuvo el suero de la convalecencia y el aislamiento viral fue negativo, se consideraron indefinidos y no se tuvieron en cuenta en el análisis.

Análisis

Empleando los grupos de dengue y de SFA no dengue, se determinó la sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN) de la IgM en suero agudo. Adicionalmente, en el gru-

po de pacientes confirmados serológicamente se determinó la sensibilidad del aislamiento viral.

Resultados

Se incluyeron 413 pacientes, 388 (94%) con muestras pareadas. Del total, 167 (40,4%) fueron casos confirmados de dengue (tablas 1 y 2), 225 fueron clasificados como SFA no dengue (tabla 2) y 21 como indefinidos. En este último grupo, la IgM del suero agudo fue negativa en 13 pacientes y positiva en los otros ocho.

Las pruebas de aislamiento viral fueron realizadas en 129 de los 163 pacientes confirmados serológicamente, siendo positivo en 34 de ellos (sensibilidad: 26,4%). La sensibilidad entre pacientes con IgM aguda negativa fue 28,6% (26/91) y entre pacientes con IgM aguda positiva fue 21,1% (8/38). Mediante aislamiento viral también se confirmó la infección por dengue en 4 pacientes sin suero obtenido en la convalecencia (tabla 1). Del total de 38 aislamientos, 36 correspondieron al serotipo DEN-3, hubo un caso con DEN-1 y otro con DEN-2.

En suero agudo de 133 pacientes con dengue, se realizaron tanto pruebas de aislamiento viral como titulación de IgM, encontrándose positiva al menos una de estas pruebas en 67 casos (sensibilidad de la combinación: 50,4%).

La prueba de IgM en suero agudo fue positiva en 52 pacientes, de los cuales sólo en dos (3,8%) no se documentó el aumento de los títulos de anticuerpos (tabla 2). Esta prueba mostró una sensibilidad de 29,9%, una especificidad de 99,1%, un VPP de 96,2% y un VPN de 65,6%.

TABLA 1. Confirmación serológica y virológica de la infección por el virus del dengue*

| Resultado del estudio serológico | Resultado del aislamiento viral | | |
|--|---------------------------------|----------|--------------|
| | Positivo | Negativo | No realizado |
| IgM aguda negativa y convaleciente positiva | 26 | 65 | 25 |
| Aumento de los títulos de IgM en muestras pareadas** | 8 | 30 | 9 |
| IgM aguda positiva, sin suero de la convalecencia | 3 | | |
| IgM aguda negativa, sin suero de la convalecencia | 1 | | |

*En esta tabla se muestran los resultados de las pruebas de los 167 casos de dengue.

**Pacientes con IgM positiva en ambos sueros, en quienes se confirmó el diagnóstico por la cuadriplicación o aumento mayor de los títulos de anticuerpos IgM contra dengue.

TABLA 2. Resultado de la prueba de ELISA IgM para dengue, en muestras tomadas en la fase aguda de la enfermedad*

| Resultado de IgM aguda** | Dengue (n = 167) | SFA no dengue (n = 225) | Total (n = 392) |
|--------------------------|------------------|-------------------------|-----------------|
| Positiva | 50 | 2 | 52 |
| Negativa | 117 | 223 | 340 |

*En esta tabla no se incluyen 21 casos indefinidos: 13 con IgM negativa y 8 con IgM positiva.

**Realizada en suero tomado entre las 48 y 96 primeras horas de enfermedad. Sensibilidad: 29,9%; especificidad: 99,1%; VPP: 96,2%; VPN: 65,6%. SFA: síndrome febril agudo.

Discusión

En este estudio se evidencia que la sensibilidad y el VPN de la IgM para dengue, son bajos entre las primeras 48 y 96 h de enfermedad, por lo que una prueba negativa haría necesaria la toma de una segunda muestra en la convalecencia.

En el presente trabajo se logró obtener el suero de la convalecencia en una proporción de pacientes muy superior a la comunicada por otros autores⁴⁻⁶, lo que se debe a que está anidado en un estudio de cohorte. En los escenarios en los que no es posible obtener con facilidad una segunda muestra de suero debe considerarse la aplicación de técnicas como la amplificación de secuencias genómicas que en combinación con el cultivo viral, pueden ofrecer una mayor sensibilidad y por tanto reducir la necesidad de tomar muestras adicionales^{7,8}.

Sin embargo, la incorporación tecnológica de estas pruebas es poco factible en las regiones endémicas de dengue. Lo anterior sumado a la baja sensibilidad del aislamiento viral, resaltan la utilidad de la vigilancia epidemiológica a través de la realización de pruebas serológicas pareadas.

Por otra parte, el VPP y la especificidad de la IgM en suero agudo son muy altos, por lo que consideramos que un resultado positivo, en los primeros días de un síndrome febril compatible con la descripción clínica de dengue, podría ser considerado confirmatorio en áreas endémicas, debido a que en estas condiciones la probabilidad de que estos anticuerpos reflejen una infección pasada es baja (3,8%). Esta observación tendría implicaciones para la vigilancia epidemiológica, al validar el diagnóstico del den-

gue en escenarios donde sólo se cuenta con una única prueba de IgM por paciente^{5,6,9,10}. Así mismo, abre la posibilidad de orientar el manejo clínico del SFA en áreas endémicas con el apoyo de pruebas de diagnóstico rápido, en pacientes que consultan tempranamente.

Bibliografía

- Organización Panamericana de la Salud. Definiciones de Casos. Dengue. Boletín Epidemiológico. 2000;21:14-5.
- Rigau-Pérez JG, Clark GG, Gubler DJ, Reiter P, Sanders EJ, Vorndam AV. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *Lancet*. 1998;352:971-7.
- Instituto Nacional de Salud de Colombia, Ministerio de Salud. Epidemia de influenza A/H3N2/Beijing/32/92 en Ambalema, Tolima, 1994. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 1996;1:6-8.
- Silarug N, Foy HM, Kupradinon S, Rojanasuphot S, Nisalak A, Pongsuwan Y. Epidemic of fever of unknown origin in rural Thailand, caused by influenza A (H1N1) and dengue fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1990;21:61-7.
- Camacho T, De la Hoz F, Cárdenas V, Sánchez C, De Calderón L, Pérez L, et al. Incomplete surveillance of a Dengue-2 epidemic in Ibagué, Colombia, 1995-1997. *Biomédica*. 2004;24:174-82.
- Narayanan M, Aravind MA, Thilathammal N, Prema R, Rex CS, Ramamurti N. Dengue fever epidemic in chennai - A study of clinical profile and outcome. *Indian Pediatr*. 2002;39:1027-33.
- Shu PY, Huang JH. Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004;11:642-50.
- Oliveira de Paula S, Malta Lima D, Clotteau M, Pires Neto Rd Rda J, Lopes da Fonseca BA. Improved detection of dengue-1 virus from IgM-positive serum samples using C6/36 cell cultures in association with RT-PCR. *Intervirology*. 2003;46:227-31.
- Gomber S, Ramachandran VG, Kumar S, Agarwal KN, Gupta P, Gupta P, et al. Hematological observations as diagnostic markers in dengue hemorrhagic fever - a reappraisal. *Indian Pediatr*. 2001;38:477-81.
- Díaz FA. Dengue en el embarazo. *Biomédica*. 2004;24:334-5.