

ANEXO 1. ESTUDIO ESPECIFICO DEL DENGUE

1. ESTUDIO VIROLÓGICO

En los pacientes con dengue, la identificación del serotipo causante de la enfermedad sólo es posible amplificando la infección mediante aislamiento viral o por PCR. Idealmente la muestra de sangre debe tomarse en los primeros tres días de fiebre, máximo los primeros 5 días, aunque excepcionalmente se ha aislado dengue después de este lapso.

- **Selección de pacientes:** pacientes que consulten por cuadro febril, idealmente de menos de 72 horas de evolución y que no tengan otra causa conocida para su fiebre. Los pacientes que resulten negativos en la gota gruesa para malaria, provenientes de la zona urbana son buenos candidatos.
- **Recolección de la muestra:** 1) tome 10 ml de sangre total en un tubo estéril sin anticoagulante, preferiblemente en tubo al vacío debidamente marcado, 2) coloque la sangre en un lugar fresco hasta que el coágulo se forme y se retraiga. Si se dispone de centrifuga, también es posible separar el suero por este procedimiento, 3) una vez separado el suero, decántelo con técnica aséptica otro tubo estéril.

Coloque la muestra inmediatamente en refrigeración. **NO SE DEBE GUARDAR EN EL CONGELADOR DE LA NEVERA PORQUE ESTO DISMINUYE NOTORIAMENTE LA VIABILIDAD DEL VIRUS DENGUE.**

- **Transporte de la muestra**

El tiempo entre la recolección de la muestra y su remisión al laboratorio debe ser muy corto (horas) porque el virus del dengue es muy termolábil. Las muestras deben enviarse refrigeradas (4 grados centígrados) inmediatamente al laboratorio. Si no se garantiza la refrigeración durante todo el transporte no envíe la muestra. Cuando esto no es posible, las muestras pueden mantenerse refrigeradas hasta por una semana sin que se modifique sustancialmente la vitalidad del virus. Si este tiempo se prolonga, la muestra debe congelarse a menos 70 C. Y garantizar su transporte a esta misma temperatura.

Remita la muestra acompañada de la respectiva orden de laboratorio con la siguiente información: Nombre, Fecha de recolección, fecha de inicio de síntomas, procedencia, indique que es para diagnóstico de dengue.

El proceso de aislamiento e identificación del virus toma aproximadamente 15 días a menos que sea una emergencia, hecho que debe manifestarse telefónicamente para acelerar el resultado. En el INS es posible hacerlo en 24 horas en casos de emergencia.

Resumen del procedimiento de la recolección del suero o plasma del paciente:

1. Rotule el tubo con el nombre del enfermo, fecha y lugar.
2. Tome de 5 -10 ml. de sangre total
3. Tape el tubo
4. Deje el tubo con la sangre en reposo y en posición vertical, aproximadamente una hora a dos horas, hasta que se produzca retracción completa del coágulo y se separe del suero.
5. Con técnica aséptica destape el tubo y aspire el suero con pipeta o jeringa estéril.
6. Remita al laboratorio de referencia inmediatamente en refrigeración recomendándose el uso de termo de icopor lleno de hielo para que no haya peligro de calentamiento

2. Estudio serológico

Consiste rutinariamente en la identificación de anticuerpo de tipo Ig M mediante la prueba Elisa, o anticuerpos totales mediante la prueba de inhibición de la hemaglutinación, fijación del complemento o neutralización.

- **Selección de pacientes:** pacientes que consulten por cuadro febril de mas de 5 días de evolución de y que no tengan otra causa conocida para su fiebre.
- **Recolección de la muestra:** 1) tome 10 ml de sangre total en un tubo esteril sin anticoagulante, preferiblemente en tubo al vacío debidamente marcado, 2) coloque la sangre en un lugar fresco hasta que el coágulo se forme y se retraiga. Si se dispone de centrifuga, también es posible separar el suero por este

procedimiento, 3) una vez separado el suero, decántelo con técnica aséptica a otro tubo estéril.

- **Transporte de la muestra:** debe hacerse en condiciones de refrigeración y con su respectiva orden de laboratorio debidamente diligenciada y/o una copia de la ficha clínico-epidemiológica del caso.
- **Procedimiento en la obtención de suero post-mortem:** el tiempo de la toma de la muestra no debe ser mayor de 30 minutos post-mortem con jeringa de 10 ml. provista de aguja número 18 a 20, haga una punción cardíaca en el sexto o séptimo espacio intercostal izquierdo, sobre la línea mamaria o sobre la línea media entre la línea mamaria y la línea axila anterior. Succione permanentemente mientras introduce la aguja para crear presión negativa, de tal modo que cuanto la aguja penetre en la cavidad ventricular (izquierda o derecha) la sangre sea succionada hacia la jeringa. Continúe con el procedimiento normal

NOTA: Ocasionalmente la fibrinólisis post mortem altera los mecanismos de coagulación y entonces el suero no se separa. En tales circunstancias, debe centrifugarse de todas maneras el tubo de ensayo, para separar el plasma de los glóbulos rojos, durante 30 minutos a 2.500 revoluciones por minuto. El plasma así separado se pasará a un vial con tapa rosca debidamente rotulado.