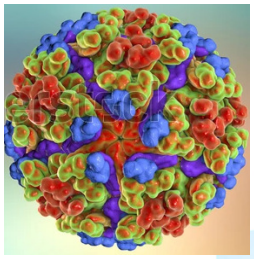
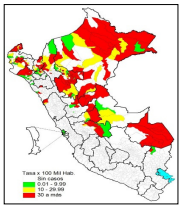
PERÚ | Ministerio de Salud | Instituto Nacional de Salud — *Investigar para Proteger la Salud*

Actualización en Diagnóstico de Laboratorio del Dengue en el Perú



Blgo. Adolfo I. Marcelo Ñique
Laboratorio de Referencia Nacional de Metaxénicas y Zoonosis Virales
CNSP, INS

Cuadro clínico + Situación epidemiológica



PRUEBAS DISPONIBLES

Diagnóstico Dengue

- Vigilancia regular
- Vigilancia centinela
- Diagnóstico por definición de caso
- Investigación operativa u otra.

- **ELISA Ag NS1 (Proteína no estructural)**
- RT PCR TR Multiplex TRIOPLEX (D, Z, CH)
- RT- PCR TR Multiplex (DENV 1,2,3,4)
- Aislamiento viral
- Secuenciación genética.

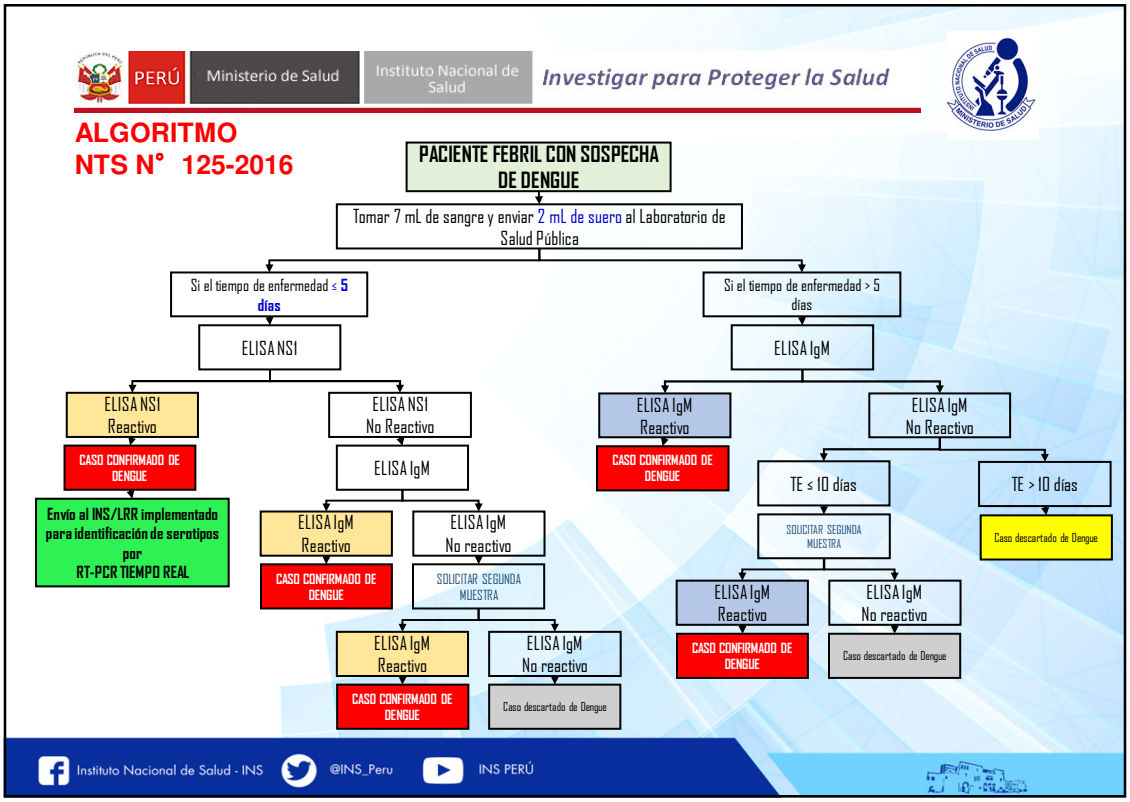
- ELISA IgM
- ELISA IgG de captura
- ELISA IgG Indirecta
- PRNT

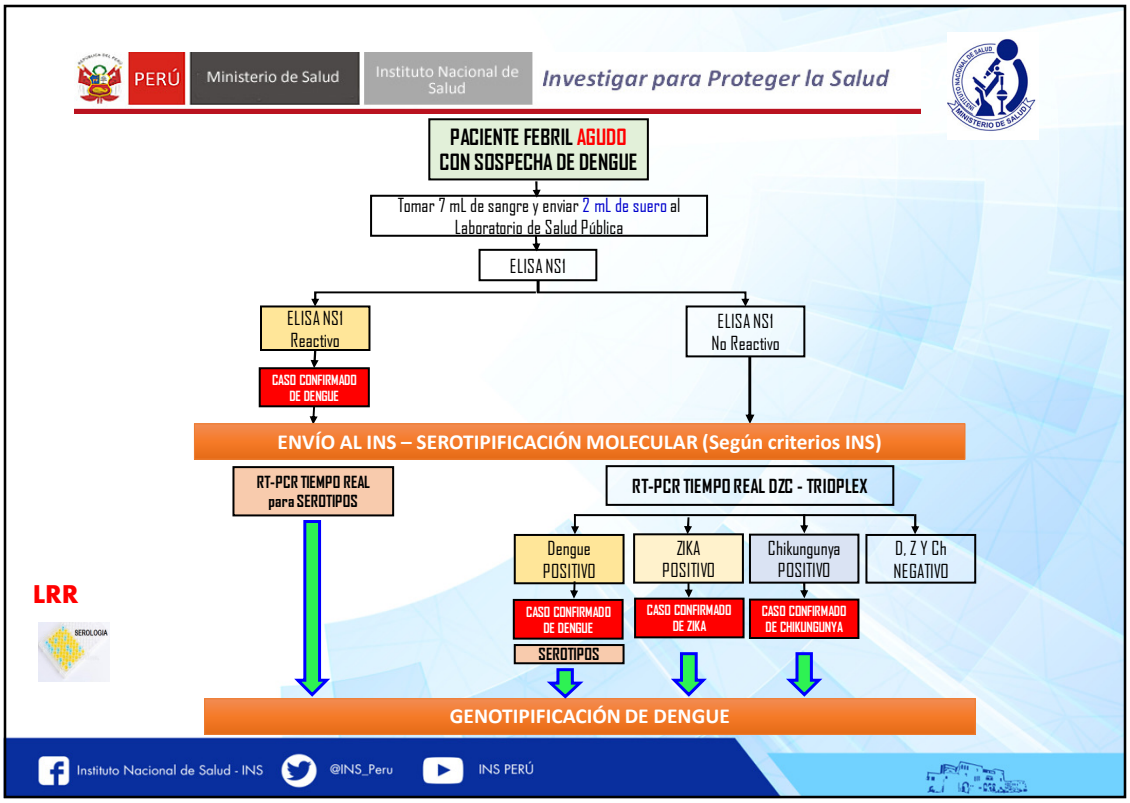
1 — 5

DIAS

6 — 15

Instituto Nacional de Salud - INS | @INS_Peru | INS PERÚ


PERÚ
Ministerio de Salud
Instituto Nacional de Salud
Investigar para Proteger la Salud
ALGORITMO
NTS N° 125-2016
PACIENTE FEBRIL CON SOSPECHA DE DENGUE
Tomar 7 mL de sangre y enviar 2 mL de suero al Laboratorio de Salud Pública
Si el tiempo de enfermedad ≤ 5 días
ELISA NS1
ELISA NS1 Reactivo
CASO CONFIRMADO DE DENGUE
Envío al INS/LRR implementado para identificación de serotipos por RT-PCR TIEMPO REAL
ELISA NS1 No Reactivo
ELISA IgM
ELISA IgM Reactivo
CASO CONFIRMADO DE DENGUE
ELISA IgM No reactivo
SOLICITAR SEGUNDA MUESTRA
ELISA IgM Reactivo
CASO CONFIRMADO DE DENGUE
ELISA IgM No reactivo
Caso descartado de Dengue
Si el tiempo de enfermedad > 5 días
ELISA IgM
ELISA IgM Reactivo
CASO CONFIRMADO DE DENGUE
ELISA IgM No Reactivo
TE ≤ 10 días
SOLICITAR SEGUNDA MUESTRA
ELISA IgM Reactivo
CASO CONFIRMADO DE DENGUE
ELISA IgM No reactivo
Caso descartado de Dengue
TE > 10 días
Caso descartado de Dengue
Instituto Nacional de Salud - INS
@INS_Peru
INS PERÚ


PERÚ
Ministerio de Salud
Instituto Nacional de Salud
Investigar para Proteger la Salud
PACIENTE FEBRIL AGUDO CON SOSPECHA DE DENGUE
Tomar 7 mL de sangre y enviar 2 mL de suero al Laboratorio de Salud Pública
ELISA NS1
ELISA NS1 Reactivo
CASO CONFIRMADO DE DENGUE
ELISA NS1 No Reactivo
ENVÍO AL INS – SEROTIPIFICACIÓN MOLECULAR (Según criterios INS)
RT-PCR TIEMPO REAL para SEROTIPOS
RT-PCR TIEMPO REAL DZC - TRIOPLEX
Dengue POSITIVO
ZIKA POSITIVO
Chikungunya POSITIVO
D, Z Y Ch NEGATIVO
CASO CONFIRMADO DE DENGUE
SEROTIPOS
CASO CONFIRMADO DE ZIKA
CASO CONFIRMADO DE CHIKUNGUNYA
GENOTIPIFICACIÓN DE DENGUE
LRR
SEROLOGIA
Instituto Nacional de Salud - INS
@INS_Peru
INS PERÚ

PERÚ | Ministerio de Salud | Instituto Nacional de Salud — *Investigar para Proteger la Salud*

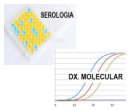
PACIENTE FEBRIL AGUDO CON SOSPECHA DE DENGUE

Tomar 7 mL de sangre y enviar 2 mL de suero al Laboratorio de Salud Pública

ELISA NS1

- ELISA NS1 Reactivo → CASO CONFIRMADO DE DENGUE → RT-PCR TIEMPO REAL para SEROTIPOS
- ELISA NS1 No Reactivo → RT-PCR TIEMPO REAL DZC – TRIOPLEX –
  - Dengue POSITIVO → CASO CONFIRMADO DE DENGUE → SEROTIPOS
  - ZIKA POSITIVO → CASO CONFIRMADO DE ZIKA
  - Chikungunya POSITIVO → CASO CONFIRMADO DE CHIKUNGUNYA
  - D, Z Y Ch NEGATIVO

LRR

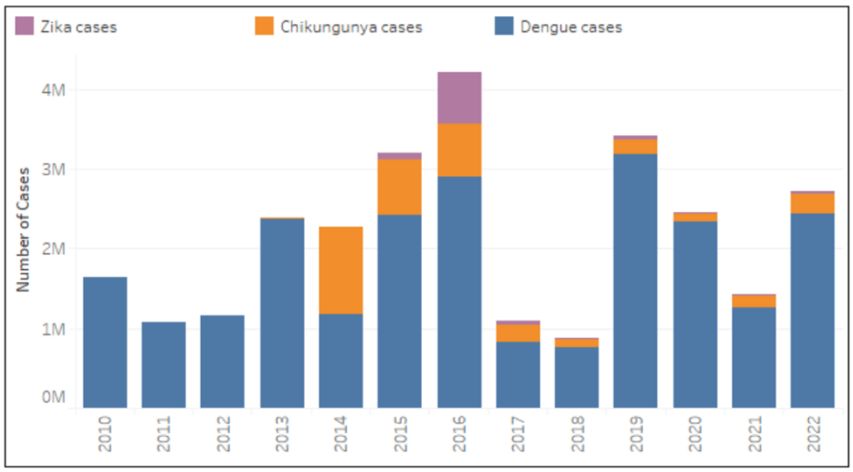


ENVÍO PARA VIGILANCIA GENÓMICA DE DENGUE (Según criterios INS)

Instituto Nacional de Salud - INS | @INS_Peru | INS PERÚ

PERÚ | Ministerio de Salud | Instituto Nacional de Salud — *Investigar para Proteger la Salud*

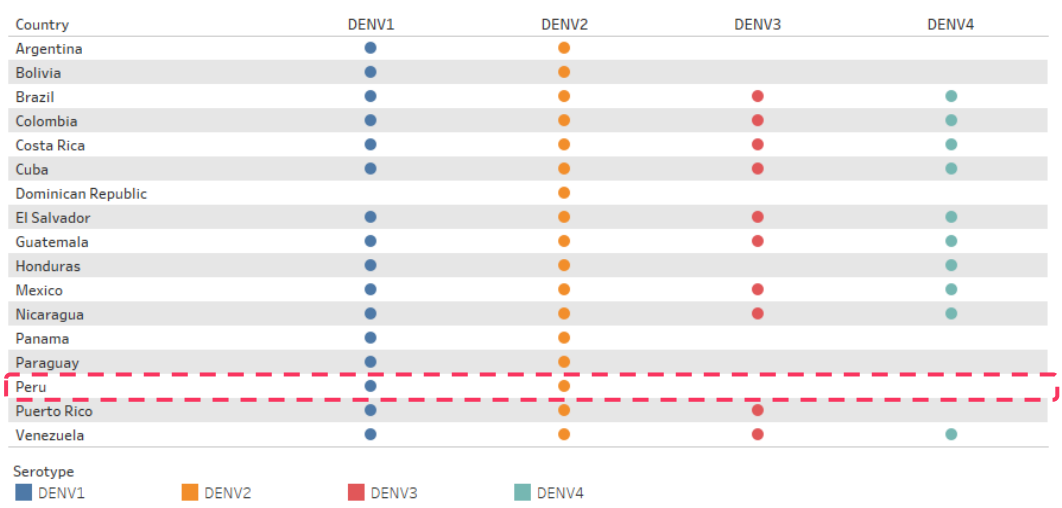
Distribución de casos de Dengue, chikungunya y zika por año, la Región de las Americas. 2010-2022



Fuente: *PLISA, PAHO / WHO (https://www.paho.org/plisa), Oct 13 2022.*

Instituto Nacional de Salud - INS | @INS_Peru | INS PERÚ

Distribución geográfica de serotipos de dengue en la región de las Américas 2022



Fuente: *Datos ingresados en la Plataforma de Información de Salud para Américas (PLISA, PAHO / WHO) por los Ministerios e Institutos de Salud de los países y territorios de la Región. Disponible en: https://www.paho.org/plisa.*
Actualizado*: Oct 13 2022.*

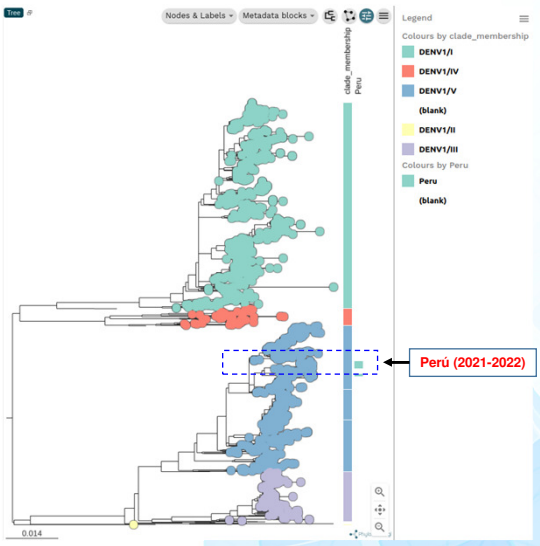
Genotipos Circulantes en el Perú

SEROTIPO	AÑO DE INGRESO PERÚ	GENOTIPOS CIRCULANTES (HASTA EL 2019)	GENOTIPOS CIRCULANTES (AL 2022)
DENV-1	1990	Genotipo III Genotipo V	Genotipo V
DENV-2	2001/2010 2019	América/Asia América **Genotipo II Cosmopolitan**	**Genotipo II Cosmopolitan***
DENV-3	2001	India - Genotipo III	
DENV-4	2001	Indonesia - Genotipo II	

* Genotipo prevalente actualmente

Fuente: Instituto Nacional de Salud, Lima – Perú.

Árbol filogenético del DENV-1 global



- Las muestras de Perú, están agrupadas en el genotipo V (grupo de color azul), se detallan con una flecha.

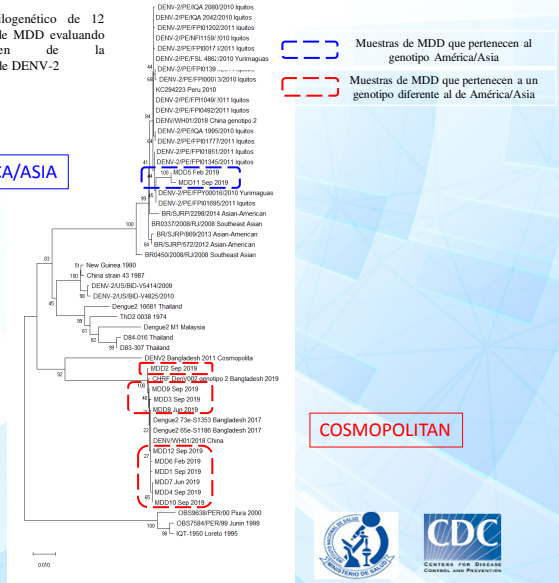
Instituto Nacional de Salud - INS @INS_Peru INS PERÚ

IDENTIFICACION DEL GENOTIPO II COSMOPOLITAN 2019

RESULTADOS:

- El análisis genético de las secuencias indican la presencia de un genotipo con **elevada homología con el genotipo Cosmopolita 2 del serotipo Dengue-2**, tal como se muestra en el árbol filogenético generado.
- Se observa también que existe otro grupo de muestras que presenta homología con el **genotipo América/Asia** que ingreso a Loreto desde fines del 2010 (Figura 1).

Figura 1: Análisis filogenético de 12 muestras de MDD evaluando en gen de la envoltura de DENV-2



Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2022;39(1).

CARTA AL EDITOR

EMERGENCIA DEL GENOTIPO COSMOPOLITA DEL VIRUS DENGUE SEROTIPO 2 (DENV2) EN MADRE DE DIOS, PERÚ, 2019

EMERGENCE OF THE COSMOPOLITAN GENOTYPE OF DENGUE VIRUS SEROTYPE 2 (DENV2) IN MADRE DE DIOS, PERU, 2019

M. Paquita García[1,a], Carlos Padilla[2,3], Dana Figueroa[1,b], Carlos Manrique[3,c], César Cabezas[4,d]

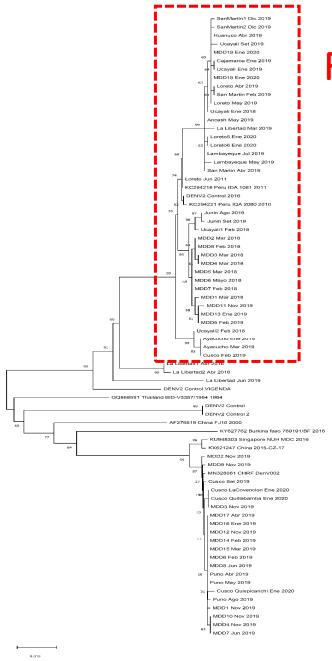
[1] Laboratorio Nacional de Referencia de Metaxénicas Virales, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Lima Perú.
[2] Laboratorio Nacional de Referencia de Biología Molecular y Biotecnología, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Lima Perú.
[3] Región de Salud de Madre de Dios.
[4] Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Lima Perú.
[a] Tecnólogo médico, [b] biólogo molecular; [c] médico; [d] médico infectólogo tropicalista.

trar la introducción de un nuevo genotipo de DENV 2, que no circula en las Américas.

Durante el brote de dengue en Madre de Dios, del año 2019, se hizo el diagnóstico inicial en los pacientes, determinando el antígeno NS1 por ELISA. El aislamiento viral en la línea celular C6-36 fue exitoso en 12 muestras de 32 procesadas. El virus fue identificado con anticuerpos monoclonales por inmunofluorescencia indirecta, y simultáneamente las muestras fueron analizadas por RT-PCR en tiempo real (qPCR-RT) en el Laboratorio de Referencia Nacional de Metaxénicas Virales del Instituto Nacional de Salud (INS). Todas las muestras fueron identificadas como DENV2.

Siguiendo el protocolo de Santiago *et al.* [9], los productos amplificados y purificados se secuenciaron por el método de Sanger en el Laboratorio de Biología Molecular del INS. Las secuencias obtenidas se ensamblaron utilizando el programa informático SeqScape para obtener la secuencia de consenso completa del gen E. Las secuencias completas del gen se utilizaron para realizar un análisis filogenético utilizando el programa informático MEGA X y el algoritmo Maximum Likehood. Ade-

S PERÚ

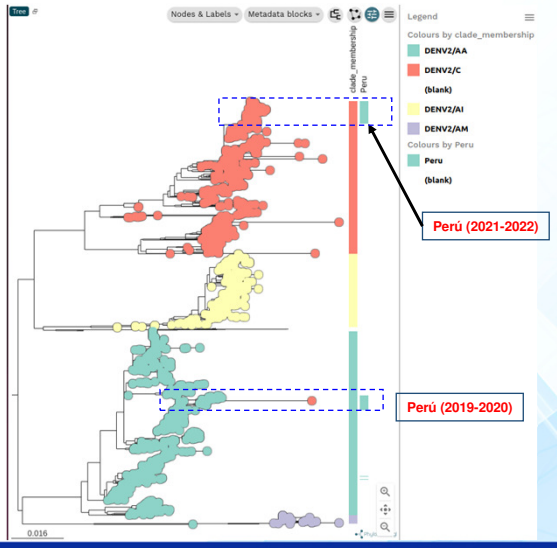


Regiones afectadas con DEN 2 Genotipos II Cosmopolitan en el Perú

SEROTIPO	GENOTIPO	REGIONES AFECTADAS (HASTA EL 2019)	REGIONES AFECTADAS (AL 2022)
DENV-2	Genotipo II Cosmopolitan	**Madre de Dios**, Cusco y Puno	Amazonas, La Libertad, Lambayeque, Cajamarca, Amazonas, Junin, Pasco, Huanuco, Loreto, Ucayali, Lima; Madre de Dios, Cusco, Puno, San Martin, Ayacucho, Huanuco

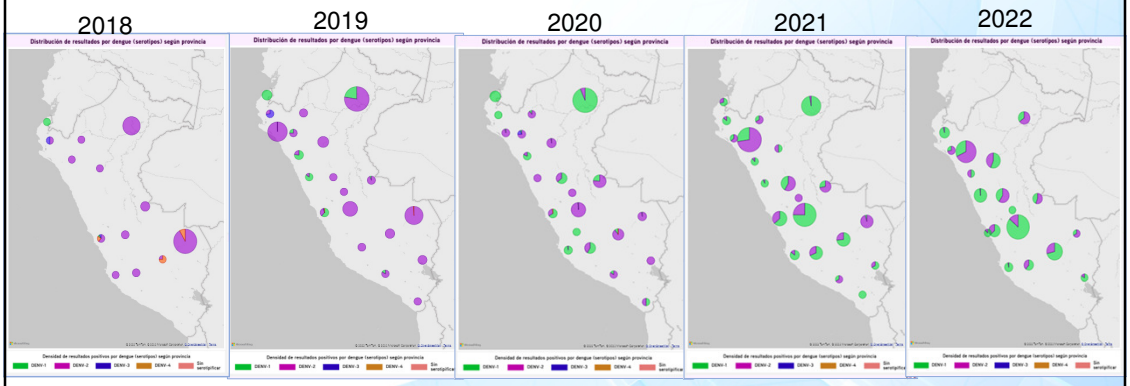
Fuente: Instituto Nacional de Salud, Lima – Perú.

Árbol filogenético del DENV-2 global



- Las muestras de Perú se encuentran agrupadas en el genotipo Cosmopolita (DENV2/C, naranja) y el genotipo Asiatico/americano (DENV2/AA, turquesa). Se adicionaron 52 secuencias provenientes de un estudio previo que corresponden al 2019 y 2020.

DISPERSION DEL VIRUS DENGUE EN EL PERÚ, DURANTE 2018 AL 2022



Instituto Nacional de Salud - INS @INS_Peru INS PERÚ

RETOS Y DESAFIOS PARA EL LABORATORIO EN EL PERU

- ✓ **Fortalecer y Mantener la capacidad de los laboratorios del país para dar respuesta oportuna a la vigilancia e investigación de brotes de dengue y otros arbovirus que vienen co-circulando a través de métodos de diagnostico sensibles, específicos, rápidos y de fácil manejo.**
- ✓ **Contar con pruebas rápidas con alta sensibilidad y especificidad diagnóstica en lugares inaccesibles.**
- ✓ **Fortalecer las capacidades de los laboratorios de salud pública a través de la capacitación, la evaluación de la competencia y el suministro permanente de reactivos y equipos de alta calidad para diagnosticar las infecciones virales emergentes y re-emergentes.**
- ✓ **Aumentar la eficiencia de un sistema de alerta temprana para identificar nuevas cepas virales.**
- ✓ **Estudios de comportamiento del virus dengue in vivo (modelos animales) in vitro (CC) y por métodos moleculares (evolución, virulencia y propagación).**
- ✓ **Vigilancia en mosquitos.**
- ✓ **Revisión anual de las NTS para su actualización.**

Instituto Nacional de Salud - INS @INS_Peru INS PERÚ

LABORATORIO DE REFERENCIA NACIONAL DE METAXENICAS VIRALES

TM. M. Paquita García Mendoza (**Responsable**)
TM. N. Susy Merino Sarmiento
Blgo. Miguel Cobos Zelada
Blgo. Adolfo Marcelo Ñique
Blga. Dana Figueroa Romero
Blgo. Gabriel De Lucio Burga
Blgo. Eissen Guerrero Seminario
Tec.Lab. Karina Huamán Ovalle.
Blga. Betzabeth Avila Paucar
Tec.Lab. Zarela Tiburcio Ramírez
Tec.Lab. Tomas Paredes Astupiña
Tec. Lab. Víctor Meza Curo

LABORATORIO DE REFERENCIA NACIONAL DE BIOLOGIA MOLECULAR – EQUIPO DE VIGILANCIA GENÓMICA

Blgo. Henry Baylon Calderón
Blgo. Omar Caceres
Blgo. Marco Galarza
Blgo. Carlos Padilla
Blgo. Victor Jimenez
Blgo. Orson Meztanza

GRACIAS POR LA ATENCIÓN

amarcelo@ins.gob.pe

Instituto Nacional de Salud - INS @INS_Peru INS - MINSA