

OR045 . LA DETECCIÓN MOLECULAR SIMULTÁNEA Y EL USO DE MUESTRA DE ORINA MEJORA LA SENSIBILIDAD EN EL DIAGNOSTICO DE LOS VIRUS DENGUE, CHIKUNGUNYA Y ZIKA.

L.Mammanna, F Gonzalez, S Giamperetti, B Deodato, S Lloveras, T Orduna, MB Bouzas
Hospital F. J. Muñiz, Argentina

INTRODUCCIÓN El algoritmo actual de diagnóstico de enfermedades transmitidas por mosquitos en pacientes con cuadros de síndromes febriles agudos se basa en el estudio secuencial en suero de virus Dengue (DENV) a través de antígeno NS1 (Ag NS1), y Zika (ZIKV) y Chikungunya (CHIKV) por RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR). Pasados los 5 días del inicio de síntomas (IS), el diagnóstico se basa en la detección de IgM y puede requerir una segunda muestra para estudios de neutralización. Existen plataformas que permiten la detección molecular de los tres virus de forma individual o simultánea y la optimización del diagnóstico especialmente en las áreas de cocirculación.

OBJETIVO: Analizar el desempeño del ensayo de RT-PCR en tiempo real Modular DX Kit (TIB MOLBIOL) en formato multiplex para DENV, ZIKV y CHIKV en la plataforma Z 480 (Z480) (Roche) y estandarizar el ensayo para muestras de orina y semen

MATERIALES Y MÉTODOS

- Se analizaron un total de 56 muestras correspondientes a 40 pacientes con síndrome febril agudo del periodo 11/2014- 03/2017.
- El diagnóstico de los pacientes incluidos y el tipo y número de muestras fueron:
- 21 pacientes negativos** para los tres virus, 21 sueros y 4 orinas.
- 10 pacientes con diagnóstico de DENV** (9/10 Ag NS1+, Biorad y 1/10 DENV IgM, Panbio) En el paciente con IgM y en 2/9 con AgNS1+ se obtuvo por lo menos 1 muestra de orina representando un total de 10 sueros y 4 orinas. Estas muestras fueron analizadas por RT-PCR y serotipificadas (Lanciotti et al) para DENV.
- 8 pacientes con diagnóstico de CHIKV** (q RT-PCR LightCycler 2.0), 9 muestras de suero.
- 1 paciente con diagnóstico de ZIKV** (qRT-PCR Genesig, Abi 7500), 3 sueros, 4 orinas y 1 semen entre los días IS 5 y 24. (Detectables: 1 suero, 3 orinas y 1 semen)
- Los 56 extractos de ácidos nucleicos, fueron analizados en la plataforma Z480 y los resultados comparados con los previos mediante cálculo de concordancia (kappa). Total de muestras, DENV 31 y ZIKV y CHIKV: 33.
- Se calculó además la mediana del tiempo IS al momento del diagnóstico para muestras de suero y orina.

RESULTADOS

❖ La tabla a continuación muestra la concordancia obtenida.

Virus (Métodos comparados)	Concordancia k (%)
DENV (Ag NS1 / Z480)	0,924 (92,4)
ZiKV (qRT-PCR /Z480)	1 (100)
CHIKV (qRT-PCR /Z480)	1 (100)

❖ No se detectaron coinfecciones

CONCLUSIONES: La plataforma Z480 permitió la detección simultánea de los tres virus con una sensibilidad equivalente para los virus de CHIKV y ZIKV en los tres tipos de muestras utilizados, y con mayor sensibilidad que el Ag NS1 de DENV. La nueva plataforma permite trabajar con muestras de orina y semen, permitiendo en DENV y en ZIKV el diagnóstico en pacientes con más de 10 días de evolución, evitando la necesidad de una segunda muestra.

- Todas las muestras de suero y orina correspondientes a los pacientes negativos fueron No detectables por Z480.
- Para DENV, las 10 muestras de suero fueron positivas en el Z480 incluyendo aquella con IgM positiva (RT-PCR negativa) de 11 días de evolución. Las 4 orinas fueron detectadas en Z480 (rango CP: 25-33) y por RT-PCR. El serotipo 1 fue detectado en 9 pacientes y el 2 en uno.
- En suero la mediana de tiempo al IS para DENV fue 5 (RIC: 2-11) versus 13 (RIC: 8-18) días en orina para Z480.
- Para CHIKV todos los sueros fueron detectables por Z480 (rango CP: 25-36) y la mediana de tiempo en suero al IS fue 5 días (RIC: 1-7) para ambos métodos.
- Para ZIKV las 5 muestras detectables fueron detectadas en Z480 en un rango de CP: 30-37. El suero fue positivo en el día 5, la orina en el día 6,13 y 20 y el semen en la única muestra al día 24.