

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**Prevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti-dengue en habitantes de las aldeas de Monterrico y
La Candelaria, Taxisco, Santa Rosa**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

Eliseo Josué Albanés Gómez

Diego Enrique Rivera Ayala

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICOS BIÓLOGOS

Guatemala, Mayo 2015

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladres	Vocal II
Br. Michael Javier Mó Leal	Vocal IV
Br. Blanqui Eunice Flores De León	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ponernos en el lugar y en el tiempo correcto. Por darnos la oportunidad y la capacidad de trabajar para lograr nuestras metas y entrever nuestros sueños. Por las innumerables bendiciones que ha derramado sobre nosotros que nos llevaron a concluir cada una de nuestras metas y a culminar con éxito nuestra profesión.

A nuestros padres, por enseñarnos a trabajar para alcanzar nuestras metas. Por su inagotable amor y darnos todo lo que está en sus manos. Por anteponer nuestras necesidades a las de ellos y convertirlas en excusas para consentirnos o corregirnos.

A nuestros herman@s, por ser los pilares que nos inyectan el querer ser mejor cada día. Por su amor incondicional y por ser nuestro@s amig@s y compañer@s. Por encargarse de recordarnos que vale la pena esforzarse cada día.

A nuestro asesor, MSc. Gerardo Arroyo, por orientarnos, no solo en nuestro trabajo de graduación, sino también a lo largo de nuestra formación profesional. Demostrándonos que se puede y debe equilibrar la calidad humana con la calidad profesional.

A nuestros amig@s y compañer@s, que nos apoyaron a lo largo de nuestra carrera y por el ánimo que inyectan en nosotros todos los días. Por la crítica sincera y la palmada empática que nos levantaron cuando el entusiasmo y el desánimo nos tumbaron. Por ser aquella familia que encontramos durante este largo viaje, por compartir esos buenos momentos, soportarnos en los malos ratos, pero sobre todo por hacernos disfrutar este viaje.

A la USAC, nuestra Alma Mater por permitirnos formarnos como profesionales, por cada uno de sus educadores que compartieron sus conocimientos y consejos, que contribuyeron grandemente en nuestro crecimiento personal y profesional.

A la USAC, nuestra Alma Mater por permitirnos formarnos como profesionales, por cada uno de sus educadores que compartieron sus conocimientos y consejos, que contribuyeron grandemente en nuestro crecimiento personal y profesional.

ÍNDICE

I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN.....	1
II. RESUMEN.....	2
III. ANTECEDENTES.....	4
A. Epidemiología.....	4
1. Dengue en las Américas.....	4
2. Agente etiológico.....	5
3. Ciclo biológico.....	7
4. Naturaleza de la enfermedad.....	8
5. Etapas del dengue.....	9
a. La infección viral del dengue.....	9
b. Dengue hemorrágico.....	10
6. Transmisión.....	10
a. El virus.....	10
b. Los vectores.....	10
c. El hospedero.....	12
7. Mecanismo de patogenicidad del microorganismo.....	13
a. Penetración y replicación del virus a la célula del hospedero.....	13
b. Entrada del virus dengue a la célula mediante la proteína E.....	15
c. Los receptores para los flavivirus y para el virus del dengue.....	16
d. Respuesta inmunológica del huésped.....	17
8. Diagnóstico.....	22
a. Diagnóstico directo.....	23
b. Diagnóstico indirecto.....	23
c. Pruebas rápidas.....	24
d. Metodologías utilizadas en el LNS de Guatemala.....	25
9. Tratamiento médico de pacientes con dengue.....	27
IV. JUSTIFICACIÓN.....	29
V. OBJETIVOS.....	30

A. General.....	30
B. Específicos.....	30
VI. HIPÓTESIS.....	31
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
A. Universo.....	32
B. Muestra.....	32
C. Criterios de inclusión y exclusión.....	32
1. Criterio de inclusión.....	32
2. Criterio de exclusión.....	32
D. Tipo de estudio.....	32
E. Recursos.....	32
1. Recursos humanos.....	32
2. Procedimientos.....	33
a. Extracción de sangre venosa.....	33
b. Prueba rápida examen rápido en placa de dengue IgG/IgM Rapid®.....	33
c. Prueba ELISA de IgG contra virus del dengue Focus Diagnostics®.....	33
d. Prueba ELISA de IgM contra virus del dengue Focus Diagnostics®.....	35
e. Descarte de materiales.....	36
F. Diseño de la investigación.....	36
1. Número de muestra.....	36
2. Diseño de muestreo.....	36
3. Análisis de resultados.....	37
4. Aspectos Éticos de la Investigación.....	37
VII. RESULTADOS.....	38
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	43
X. CONCLUSIONES.....	48
XI. RECOMENDACIONES.....	49
XII. REFERENCIAS.....	50
XIII.ANEXOS.....	55

I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

La fiebre dengue, o simplemente dengue, es una enfermedad infecciosa aguda producida por los virus del dengue y transmitida por el mosquito *Aedes aegypti*. Se caracteriza por fiebre, cefalea, dolores osteomusculares, exantema y leucopenia (Vélez, 2003).

El dengue está presente en casi todas las zonas tropicales y subtropicales del mundo. En este momento es la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importante en términos de mortalidad y morbilidad. En los últimos años la enfermedad se ha presentado desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de Argentina y en todas las islas del Caribe. Los cuatro serotipos del virus del dengue circulan actualmente en las Américas y la enfermedad se ha convertido en una prioridad de la salud pública en la región (Vélez, 2003).

Se estima que más de 100 millones de personas se infectan con este virus cada año, por lo que se ha convertido en un importante problema de salud pública (Martínez, 2005).

Casi la mitad de la población mundial que habita las áreas tropicales y subtropicales está en riesgo de sufrir esta infección. La población de estudio habita en ambientes tropicales por lo que se espera obtener un valor alto de prevalencia de anticuerpos desarrollados por la infección del virus del dengue. La Organización Mundial de Salud estima que 80 millones de personas por año contraen la infección, con unas 550.000 hospitalizaciones y 25.000 muertes (Arbo, 2011).

Derivado de los trabajos realizados en los cursos de Investigación I y II de la carrera de Química Biológica el año 2012; del estudio: Indicadores de Salud de las Aldeas Monterrico y La Candelaria, Municipio de Taxisco, Departamento de Santa Rosa; se extrajo la información y datos epidemiológicos que sustenta este seminario, mismo que aporta elementos sencillos pero valiosos para conocer y poder controlar su embate. Siendo este el estudio Macro.

Se espera que al realizar el estudio y dependiendo de los resultados, tanto la población como las autoridades competentes conozcan y desarrollen medidas preventivas con el fin de disminuir el riesgo a infectarse con este virus, evitando de esta manera el desarrollo y contacto con el vector.

II. RESUMEN

El dengue es la enfermedad viral transmitida por vectores de más rápida propagación en el mundo, donde más de la mitad de la población mundial se encuentra en riesgo de adquirir la enfermedad. Guatemala es un país catalogado como zona de riesgo y dispone de escasa información sobre la situación epidemiológica de la enfermedad, es por ello que se realizó este trabajo con el objetivo de establecer la prevalencia de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del dengue en la población de las aldeas Monterrico y La Candelaria, del municipio de Taxisco, departamento de Santa Rosa.

Para llevar a cabo el estudio se seleccionaron 36 viviendas de las 209 que existen en la aldea Monterrico y 30 viviendas de las 123 viviendas que existen en la aldea La Candelaria, ambas del municipio de Taxisco. Para la selección de las viviendas se utilizó un muestreo aleatorio y por conglomerados con un 95% de confianza.

Con previo consentimiento informado, se obtuvo una muestra de sangre coagulada de todos los habitantes de las viviendas seleccionadas de ambas aldeas. Mediante análisis serológico se estableció la presencia de anticuerpos IgG e IgM contra dengue, utilizando una prueba inmunocromatográfica rápida (IgG/IgM Rapid®). De igual manera los sueros de los pacientes fueron evaluados mediante una prueba de ELISA para establecer la presencia de anticuerpos IgG e IgM contra dengue (Virus IgG/IgM capture, DxSelect™). Los resultados fueron informados como positivos para cada inmunoglobulina, ambas o negativos. Se recolectó información epidemiológica y de factores de riesgo en cada vivienda.

Se muestreó un total de 196 pacientes, 106 en Monterrico y 90 en La Candelaria, de los cuales 26.4% y 24.4% fueron positivos para la presencia de IgG o IgM en Monterrico y La Candelaria respectivamente. La prevalencia de anticuerpos IgM en Monterrico y La Candelaria fue del 17.0% y 12.2% respectivamente, mientras que la prevalencia de anticuerpos IgG fue del 7.50% en Monterrico y 8.90% en La Candelaria.

De igual manera se calculó el índice Kappa para ambas aldeas en base a la seropositividad total. Para ello se compararon los resultados de las pruebas rápidas con los ELISA realizados en Tailandia. Los índices obtenidos fueron 0.5283 para Monterrico y 0.7568 para La Candelaria.

Al final del estudio se concluyó que la prevalencia de anticuerpos en ambas aldeas fue de 25.5% similar a los reportados por el Laboratorio Nacional de Salud en otras localidades del país y que el

género femenino es más propenso a una infección con el virus. En consecuencia a esta elevada prevalencia, deben mejorarse las medidas de control de la transmisión del virus y de los métodos diagnósticos para establecer prevalencias actuales.

III. ANTECEDENTES

A. Epidemiología

El dengue es la enfermedad viral transmitida por mosquito de más rápida propagación en el mundo. En los últimos 50 años, su incidencia ha aumentado 30 veces con la creciente expansión geográfica hacia nuevos países y, en la actual década, de áreas urbanas a rurales. Anualmente ocurre un estimado de 50 millones de infecciones por dengue y, aproximadamente, 2,5 mil millones de personas viven en países con dengue endémico. La resolución WHA55.17 de la Asamblea Mundial de la Salud de 2002 instó a un mayor compromiso con el dengue por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y sus estados miembros. De especial importancia es la resolución WHA58.3 de la Asamblea Mundial de la Salud de 2005, sobre la revisión del Reglamento Sanitario Internacional (RSI), que incluye al dengue como ejemplo de una enfermedad que puede constituir una emergencia de salud pública de interés internacional con implicaciones para la seguridad sanitaria, debido a la necesidad de interrumpir la infección y la rápida propagación de la epidemia más allá de las fronteras nacionales (OMS, 2009).

1. Dengue en las Américas

La interrupción de la transmisión del dengue en gran parte de la Región de las Américas de la OMS, fue el resultado de la campaña de erradicación del *A. aegypti* en dicha zona, principalmente durante la década de 1960 y principios de la década de 1970. Sin embargo, no se mantuvieron las medidas de vigilancia y control del vector, y hubo reinfestaciones subsiguientes del mosquito, seguidas de brotes en el Caribe, en América Central y América del Sur. Desde entonces, la fiebre del dengue se ha propagado con brotes cíclicos que ocurren cada 3 a 5 años. El mayor brote ocurrió en 2002 en el que se notificaron más de un millón de casos (OMS, 2009).

De 2001 a 2007, más de 30 países de las Américas notificaron un total de 4,332,731 casos de dengue. El número de casos de fiebre hemorrágica por dengue (FHD) en el mismo período fue de 106,037. El número total de muertes por dengue de 2001 a 2007 fue de 1,299, con una tasa de letalidad por la forma hemorrágica de 1.2%. Los cuatro serotipos del virus del dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4) circulan en la región. En Barbados, Colombia, República Dominicana, El

Salvador, Guatemala, Guyana Francesa, México, Perú, Puerto Rico y Venezuela, se identificaron simultáneamente los cuatro serotipos en un año durante este período (OMS, 2009).

Durante el período 2001–2007, se reportaron 545.049 casos, que representa el 12,5% de dengue en las Américas, con 35.746 casos de fiebre hemorrágica por dengue y 209 muertes. Nicaragua tuvo 64 muertes (31%), seguido de Honduras con 52 (25%) y México con 29 (14%). En Costa Rica, Honduras y México se presentó la mayor cantidad de casos en este período. Los serotipos más frecuentes fueron DEN-1, DEN-2 y DEN-3 (OMS, 2009).

2. Agente etiológico

El dengue es un flavivirus que forma parte de la familia *Flaviviridae*, la que también reagrupa a los pestivirus y al virus de la hepatitis. Los flavivirus, son 68 virus, mayoritariamente transmitidos por artrópodos “llamados arbovirus”. Gran número de ellos son patógenos al hombre, por lo que son los causantes de problemas de salud pública. La diversidad de las patologías (fiebre hemorrágica, formas con choque, encefalitis, formas pseudogripales), se caracteriza por su carácter masivo en las epidemias (Estébanez, 2005).

La forma de los viriones es esférica, miden 50 nanómetros de diámetro, y poseen una nucleocápside icosaédrica. El RNA tiene un marco de lectura abierto, con polaridad positiva, que codifica para una poliproteína la cual después de ser procesada proteolíticamente, por las enzimas virales y celulares, se convierte en las tres proteínas estructurales siguientes: del núcleo (C), de la premembrana (preM) y de la envoltura (E). Hay codificadas otras siete proteínas más, denominadas no estructurales, entre las que se incluyen una enzima proteasa de serinas, una RNA helicasa y una RNA polimerasa dependiente de RNA codificadas en el extremo 3' del RNA. La proteína C que está asociada al RNA viral tiene una masa molecular relativa (MMr) de 15 kDa. La proteína E está glicosilada y tiene una MMr de 59 a 58 kDa. La proteína M es fuertemente hidrofóbica, se encuentra en la membrana del virus, y tiene una MMr de 8 kDa (Rocha, 2005).

La proteína de la cápside, también conocida como proteína *coreo* de cubierta, pesa 11 kDa, aproximadamente. Su estructura secundaria consiste en cuatro hélices alfa que cumplen diferentes funciones: las hélices 3 y 4 son hidrofóbicas y anclan la proteína a la membrana del retículo endoplásmico.

La hélice 1, ubicada en el extremo N-terminal de la proteína y orientada hacia el citoplasma, posee aminoácidos de carácter básico que se asocian y unen fuertemente al ARN genómico recién sintetizado; de esta manera, se forma el complejo riboproteico o nucleocápside que protege al ARN viral de la degradación y promueve la organización del ARN en el interior de la partícula viral en formación. La nucleocápside se estabiliza por la interacción de varios homodímeros antiparalelos de la proteína C, que rodean con gran afinidad y especificidad a la hebra de ARN viral (Schneemann, 2006).

La hélice 2 posee una naturaleza muy hidrofóbica que interviene durante el ensamblaje de la ribonucleoproteína y de la partícula viral. En el primer caso, actúa como una bisagra que favorece el acercamiento del ARN viral al resto de la proteína C anclada en la membrana del retículo endoplásmico. Por otro lado, la hélice 2 recluta pequeñas gotas lipídicas (*lipiddroplets*), presentes en el citoplasma, que promueven la formación de la partícula viral. Además, la proteína de la cápside está anclada en el retículo endoplásmico e interactúa con las proteínas precursora de membrana (prM) y de envoltura, para favorecer y completar el ensamblaje de las partículas virales (Urbanowski, 2008).

La proteína precursora de membrana (prM) tiene un peso molecular de 26 kDa y está presente en los viriones inmaduros y junto con la proteína M, participa fundamentalmente en el proceso de maduración de la partícula viral. La proteína precursora de membrana es procesada después de la transducción por la proteasa celular furina que la divide en dos y genera, por un lado, el péptido pr, y por otro, la proteína M, que queda con un peso molecular de 8 kDa. La proteína tiene dos dominios transmembrana y un ectodominio de 40 aminoácidos, aproximadamente. Este último, puede inducir apoptosis en diferentes líneas celulares tumorales. Con el fin de precisar la región del ectodominio que induce apoptosis, mediante técnicas de biología molecular, se identificó un péptido de nueve aminoácidos que corresponde a los residuos 32 al 40 del dominio externo, que fue llamado ApoptoM, como el responsable de inducir la muerte de las células. La señal pro-apoptótica de ApoptoM se induce solamente cuando este dominio es transportado por la ruta secretoria de la célula y se puede inhibir cuando el ectodominio se ancla al retículo endoplásmico o cuando se le adiciona el péptido señal KDEL, que marca a las proteínas para ser devueltas al retículo endoplásmico. Estos

resultados sugieren que el péptido ApoptoM de la proteína M podría estar involucrado en la muerte celular y el daño tisular sufrido durante la infección (Catteau, 2003).

La proteína de envoltura tiene un peso molecular de 50 kDa, posee tres dominios denominados I, II y III, y se distribuye sobre la superficie del virus, formando complejos homodiméricos de tipo cabeza-cola. Los dominios II y III de cada uno de las proteínas del homodímero son determinantes para las interacciones entre el virus y los receptores de las células vulnerables. Por otra parte, la glucoproteína E es el principal inmunógeno del virus, por lo tanto estimula la respuesta inmune del individuo e induce la producción de anticuerpos neutralizadores (McBride, 2000).

La importancia funcional de la proteína E radica en que es la única proteína viral que interactúa con las moléculas receptoras de la membrana plasmática de las células vulnerables que favorecen la endocitosis del virus. Por lo tanto, las mutaciones y modificaciones posteriores a la transducción que sufre esta proteína en cada ciclo de replicación, pueden afectar directamente la eficiencia de la replicación, la virulencia y el tropismo del DENV, al igual que puede regular el establecimiento y el control de la infección por parte del sistema inmunitario (Zhang, 2004).

El orden de los productos de rompimiento de la proteína del virus del dengue es: NH₂-C-preM(M)-E-ns1-ns2A-ns2B-ns3-ns4A-ns4B-ns5-COOH (Rocha, 2005).

El RNA posee una base metilada o “cap” tipo I (m⁷GppAmp) en el extremo 5', junto a una secuencia de 95 a 132 bases; el extremo 3', carece de la cola de poliadenina, pero contiene otra secuencia de 114 a 634 bases. Estas secuencias, que flanquean el marco de lectura y no se traducen, son conservadas y se considera que podría desempeñar funciones en la replicación del RNA, aún no muy bien definidas (Rocha, 2005).

3. Ciclo biológico

En África y en Asia existen ciclos selvático y urbano similares a los de la fiebre amarilla. En las Américas sólo se conoce un ciclo urbano en el cual el hombre actúa como único reservorio vertebrado y *A. aegypti* como único vector. *A. aegypti* es un mosquito de costumbres peridomésticas,

(alrededor de la casa), que habita preferencialmente en zonas urbanas por debajo de los 1,800 metros sobre el nivel del mar. La oviposición y los estados inmaduros del insecto se desarrollan en recipientes destinados al almacenamiento de agua como tanques, pozos, floreros y albercas o en depósitos de agua que se forman en objetos abandonados como frascos, latas, llantas, juguetes, etc. Los mosquitos adultos suelen vivir dentro o alrededor de las viviendas (Romero, 2007).

La hembra de *A. aegypti* se infecta al ingerir sangre de un individuo en fase de viremia. El virus alcanza las glándulas salivales entre ocho y 14 días después. A partir de ese momento el insecto se hace infectante y permanece así por toda su vida. Experimentalmente se ha demostrado que la hembra puede transmitir la infección a su descendencia, pero la importancia de este fenómeno en condiciones naturales se desconoce (Vélez, 2003).

4. Naturaleza de la enfermedad

El dengue es una enfermedad catalogada entre las fiebres hemorrágicas, nombre genérico que se da a un grupo de enfermedades víricas agudas que suelen comenzar con un cuadro de fiebre y dolores musculares que evoluciona hacia aturdimiento, colapso, hinchazón y choque. Según el tipo de virus, las fiebres hemorrágicas pueden inducir afecciones respiratorias, hemorragias internas, patologías renales y la muerte. La mayor parte de los virus causantes de fiebre hemorrágica se han identificado en el curso de los últimos cincuenta años, y cada año se descubre alguno nuevo. El dengue también conocido como la fiebre quebranta huesos, se puede presentar en cuatro formas (Blandón, 2006). Aunque puede presentar una leve molestia como catarro común o gripe, o con signos o síntomas casi imperceptibles, llamado también asintomático. Cuando el dengue se presenta de la forma asintomática; es leve de tipo "gripal" que afecta a los niños mayores y a los adultos, pero rara vez causa molestias y cuando las causas no son lo suficientemente fuertes como para imposibilitar las actividades rutinarias de la persona afectada. La fiebre hemorrágica de dengue y síndrome de choque de dengue es la principal complicación que puede causar la muerte (Blandón, 2006).

La fiebre del dengue o dengue clásico; se le llama clásico porque es una de las tres etapas que demuestra síntomas y signos perceptibles por el paciente y el médico y pueden identificar la enfermedad o por lo menos sospechar de ella. La fiebre hemorrágica del dengue (FHD); es otra

forma grave, en la que pueden sobrevenir hemorragias y a veces es el episodio previo que puede llevar al síndrome de choque por dengue, que lleva a la muerte, por tal razón en los niños es sumamente grave. El síndrome de choque por dengue, es una complicación de la enfermedad mortífera para casi la mitad de las personas si el tratamiento y el diagnóstico temprano, no son oportunos para prevenir la muerte. Si no se aplica inmediatamente el tratamiento adecuado, el enfermo puede caer en estado de choque y morir. Los síntomas de la fiebre de dengue varían según la edad y el estado general de salud del paciente. Los lactantes y los niños pequeños pueden presentar un cuadro de fiebre y erupción "sarampionosa", difícil de distinguir de la gripe, el sarampión, el paludismo, la hepatitis infecciosa y otras enfermedades febriles. Los niños mayores y los adultos pueden tener síntomas análogos o un cuadro sintomático variable entre leve y gravísimo (Blandón, 2006).

5. Etapas del dengue

a. La infección viral del dengue

Existen cuatro serotipos del virus del dengue: Dengue 1, Dengue 2, Dengue 3 y Dengue 4 detectables con métodos serológicos. La infección del hombre con un serotipo produce inmunidad para toda la vida contra la re-infección de ese serotipo, pero solo protección temporal y parcial contra los otros. Todos los serotipos han sido aislados de casos autóctonos en la República de Guatemala (Blandón, 2006).

La fiebre puede durar de tres a cinco días (rara vez más de siete días, y suele ser difásica). El dolor de cabeza intenso (cefalea), dolor de músculos (mialgias), dolor de articulaciones (artralgias), dolor atrás de los ojos (retroorbital) con exacerbación al efectuar movimientos oculares, que hace difícil soportar la luz (fotofobia), sin deseos de comer (anorexia) por pérdida temporal del sentido del olfato y del gusto, alteraciones del aparato gastrointestinal que puede producir náuseas, vómitos, diarrea y exantema rubeliforme. En algunos casos aparece tempranamente eritema (cambio de color de la piel a rojizo) generalizado.

Las características clínicas de la fiebre del dengue dependen a menudo de la edad del paciente y así es como, los lactantes y preescolares pueden sufrir una enfermedad febril indiferenciada con erupción maculopapular. Los niños mayores y los adultos pueden tener una enfermedad febril leve o

bien la clásica enfermedad incapacitante de inicio abrupto, fiebre alta, cefalea intensa, dolor retroorbital, dolores musculares y articulares y erupción cutánea. Las hemorragias de la piel (con prueba del torniquete positiva, petequias o ambas) no son raras. Es frecuente la leucopenia y en ocasiones se observa trombocitopenia. La tasa de mortalidad es sumamente baja (Blandón, 2006).

b. Dengue hemorrágico (DH)

Muchas epidemias de fiebre del dengue se asocian a complicaciones hemorrágicas tales como epistaxis, hemorragia gingival, hemorragia gastrointestinal, hematuria, e hipermenorrea, en raras ocasiones una hemorragia grave ha causado la muerte. Es importante diferenciar los casos con hemorragia inusual de los de dengue hemorrágico (Blandón, 2006).

Los casos típicos se caracterizan por: fiebre alta, fenómenos hemorrágicos, hepatomegalia, y a menudo insuficiencia circulatoria. La trombocitopenia a menudo de moderada a intensa con hemoconcentración simultánea es un hallazgo de laboratorio característico. El cambio fisiopatológico principal que determina la gravedad de la enfermedad en el DH y los distingue del dengue clásico es la extravasación de plasma, puesta de manifiesto por un incremento del hematocrito y una hemoconcentración ascendente (Durán, 2010).

6. Transmisión

a. El virus

La partícula madura del virus del dengue es esférica, con un diámetro de 50 nm, y contiene múltiples copias de las tres proteínas estructurales, una membrana de doble capa derivada del hospedero y una copia única de un genoma de ARN monocatenario de polaridad positiva. El genoma está hendido por proteasas virales y del huésped en tres proteínas estructurales (cápside, C, prM, el precursor de membrana, M, proteína y envoltura, E) y siete proteínas no estructurales (OMS, 2009).

b. Los vectores

El mosquito es un insecto pequeño, de color oscuro con rayas blancas en el dorso y en sus patas. Emite un resplandor plateado, según la incidencia de la luz sobre su cuerpo. Adopta una posición paralela a la superficie de reposo. Es de hábitos diurnos, se muestra activo a media mañana y poco

antes de oscurecer. Sus hábitos son domésticos y su costumbre es seguir a las personas en sus desplazamientos.

Elige habitar tanto en áreas interiores o exteriores de las casas o departamentos, especialmente en lugares frescos y oscuros. Su alimentación, como la de otros insectos de su especie, consiste en el néctar y jugos vegetales, pero además, la hembra hematófaga (pica a cualquier organismo vivo que tenga sangre caliente), ya que después del apareamiento necesita sangre para la maduración de sus huevos. Su ataque es silencioso, picando las partes bajas de las piernas del hombre, especialmente los tobillos (Arenas, 2012).

La temperatura favorable para el desarrollo del *Aedes aegypti* se encuentra entre los 21 y 29 grados centígrados y la longevidad y fecundidad entre los 22 y los 30 grados centígrados. Por lo que se sugiere una variación de la temperatura puede ser un factor estimulante de la eclosión y determinante en el favorecimiento del ciclo del *Aedes aegypti* (Arenas, 2012).

El depósito de sus huevos lo hace en recipientes que contengan agua “limpia” (floreros, portamacetas, latas, botellas, tambores, cubiertas usadas con agua de lluvia) haciéndolo en la superficie, los que adheridos a la parte interna de los recipientes artificiales o naturales, forman verdaderos criaderos. Los huevos eclosionan en 2 o 3 días convirtiéndose en larvas en condiciones favorables de temperatura y humedad. Los huevos constituyen la fase de resistencia del ciclo, dado que pueden mantener vivo el embrión hasta un año. Por lo general el *Aedes aegypti* vive unas pocas semanas, no superando el mes. Su capacidad de vuelo es de aproximadamente 100 metros, por lo que el mosquito que pica es el mismo que se ha “criado” dentro de la vivienda (Arenas, 2012).

En un estudio realizado por Arenas y Carvajal en el 2012 se determinó que la temperatura media ambiental de 28°C favorece el desarrollo de hembras vs machos en comparación a 26 °C y 30 °C. Con lo anterior se propone que ante el aumento esperado de la temperatura ambiental producto del efecto invernadero para las próximas décadas, se podría esperar una afectación sustancial de los patrones endémicos epidémicos (prevención primaria ante vector, control vectorial) de las enfermedades tropicales transmitidas por vectores y en este caso las relacionadas con el *Aedes aegypti* ya que al facilitar el ciclo de vida del vector y con un aumento en la población de hembras, la probabilidad de transmisión del virus del dengue facilitará la presentación de períodos epidémicos atípicos como el presentado en el segundo semestre del 2009 y el primer semestre de 2010.

Los diferentes serotipos del virus del dengue se transmiten a los humanos mediante picaduras de mosquitos *Aedes* infectados, principalmente el *A. aegypti*. Este mosquito es una especie tropical y subtropical ampliamente distribuida alrededor del mundo, especialmente entre las latitudes 35°N y 35°S. Estos límites geográficos corresponden, aproximadamente, a un invierno isotérmico de 10 °C.

El *A. aegypti* también se ha encontrado en áreas tan al norte como 45 °C, pero dichas invasiones han ocurrido durante los meses más calidez y los mosquitos no han sobrevivido los inviernos. Además, a bajas temperaturas, *A. aegypti* es relativamente raro por arriba de los 1,800 metros sobre el nivel del mar. Las etapas inmaduras se encuentran en hábitats cubiertos de agua, principalmente en recipientes artificiales estrechamente asociados con viviendas humanas y, a menudo, bajo techo.

Los estudios sugieren que la mayoría de las hembras de *A. aegypti* pasan su período de vida en las casas o alrededor de ellas donde emergen como adultos. Esto significa que las personas, y no los mosquitos, trasladan rápidamente el virus dentro de las comunidades y entre ellas. Los brotes de dengue también se han atribuido a *Aedes albopictus*, *Aedes polynesiensis* y varias especies del complejo *Aedes scutellaris*. Cada una de estas especies tiene ecología, conducta y distribución geográfica determinadas.

En décadas recientes, *A. albopictus* se ha propagado de Asia a África, las Américas y Europa, con la notable ayuda del comercio internacional de llantas usadas, en las cuales se depositan los huevos cuando contienen agua de lluvia. Los huevos pueden permanecer viables durante muchos meses en ausencia de agua (OMS, 2009).

c. El hospedero

Se conocen solamente tres huéspedes naturales para los virus dengue: los seres humanos, algunos primates y los mosquitos *Aedes*. Los chimpancés y otros monos pueden infectarse y desarrollar títulos de viremia suficientes para infectar mosquitos y hacer epizootias (Blandón, 2006).

Después de un período de incubación de 4 a 10 días, la infección causada por cualquiera de los cuatro serotipos del virus puede producir una gran variedad de alteraciones, aunque la mayoría de las infecciones son asintomáticas o subclínicas (Hoyos, 2010).

Se piensa que la infección primaria induce inmunidad protectora de por vida contra el serotipo causante de la infección. Las personas que sufren una infección están protegidas contra la

enfermedad clínica por un serotipo diferente en los siguientes dos a tres meses de la infección primaria, pero no tienen inmunidad protectora cruzada a largo plazo (OMS, 2009).

Los factores individuales de riesgo determinan la gravedad de la enfermedad e incluyen infección secundaria, edad, raza y posibles enfermedades crónicas (asma bronquial, anemia de células falciformes y diabetes mellitus). Los niños pequeños, en particular, pueden tener menor capacidad que los adultos para compensar la extravasación de plasma capilar y, por consiguiente, están en mayor riesgo de choque por dengue (OMS, 2009).

La magnitud y duración de la viremia en ratones; es inferior a la observada en humanos (uno a dos días y entre dos a doce días, respectivamente). Mediante inoculación directa al cerebro del ratón después de varios pases, algunas cepas pueden ser adaptadas a este animal, produciéndole parálisis flácida. Los seres humanos son los únicos capaces de expresar clínicamente la infección por virus dengue (Blandón, 2006).

Los estudios seroepidemiológicos en Cuba y Tailandia apoyan de manera firme la participación de la infección heterotípica secundaria como un factor de riesgo para dengue grave, aunque se han informado algunos casos graves asociados con la infección primaria. El intervalo de tiempo entre las infecciones y la secuencia viral específica de las infecciones también pueden ser de importancia.

Los estudios en la región americana han demostrado que las tasas de dengue grave son más bajas en individuos de ancestros africanos que en los que provienen de otros grupos étnicos (OMS, 2009).

7. Mecanismo de patogenicidad del microorganismo

a. La penetración y replicación del virus a la célula del huésped

La entrada del virus en células mamíferas y en las de mosquito se inicia con el acercamiento del DENV a la superficie de la célula; luego, la proteína E interactúa con proteínas o proteoglicanos de la membrana celular que median la unión y la posterior endocitosis del virus. Se puede hacer por dos mecanismos: la envoltura viral se puede fusionar con la membrana celular, con la deposición inmediata de la nucleocápside dentro del citoplasma. El otro mecanismo consiste en que la membrana plasmática se invagina y forma endosomas alrededor del virus todavía envuelto.

Cuando la nucleocápside se halla libre en el citoplasma, se inician los procesos de traducción y replicación del ARN (13, 50). El ARN genómico viral del DENV es monocatenario de sentido positivo, con un único marco de lectura que traduce un polipéptido completo, el cual es procesado en el retículo endoplásmico por proteasas celulares y la actividad NS3pro, que libera de forma ordenada a las tres proteínas estructurales (C, prM/M y E) y las siete proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) encargadas de la replicación del genoma y el ensamblaje viral (Velandia, 2011).

El proceso de ensamblaje comienza con la formación de la nucleocápside gracias a la interacción del ARN genómico y la proteína C en presencia de pequeñas gotas de lípidos; sobre esta primera estructura luego se asocian las proteínas prM/M y E, que deben estar inmersas en la membrana del retículo endoplásmico. Posteriormente, suceden dos etapas de maduración de la partícula viral. Primero se organizan de forma heterodimérica las proteínas prM/M y E, en donde la primera recubre a la segunda; este recubrimiento le confiere un aspecto rugoso a la superficie del virus cuando se observa por microscopía electrónica. En el segundo paso, esta partícula inmadura transita desde el retículo endoplásmico hasta las regiones *cis* y *trans* del aparato de Golgi, donde se inicia la segunda etapa de maduración. En esta última etapa, los cambios de conformación y de rotación de la proteína E generan homotrimeros antiparalelos de la misma, lo que le da una apariencia lisa a la superficie del virus. Por último, un nuevo procesamiento proteolítico sobre la proteína prM/M por la proteasa furina, independiza el péptido pr y la proteína M. Esta nueva modificación estabiliza los homotrimeros de E y mantiene unido al péptido pr.

Finalmente, cuando el virus es liberado, el pH neutro del espacio extracitoplásmico induce el desprendimiento del péptido pr y la proteína E adquiere la conformación final que puede ser reconocida por las moléculas receptoras de la célula sensible e iniciar un nuevo ciclo de infección en otra célula (Velandia, 2011).

Tal como ocurre en la fiebre amarilla, el dengue no es transmitido por contacto directo de un enfermo o sus secreciones con una persona sana, sino a través de un tercer elemento, el *Aedes aegypti*; habiéndose obtenido de dicho mosquito infestado con cualquiera de los cuatro serotipos del virus dengue (Blandón, 2006).

El evento inicial de la infección por los *Flavivirus*, que corresponde a la adsorción, aún no está caracterizado del todo; se cree que algunas moléculas de la superficie celular como los receptores Fc o el complejo CD3 pueden participar en la unión y posteriormente en la captura de los viriones mediante la endocitosis, ya que no se han identificado los receptores específicos para las glicoproteínas de los virus. Aunque también se ha descrito que los virus pueden fusionarse directamente a la membrana plasmática (Rocha, 2005).

Después de la internación de las partículas virales mediante las vesículas cubiertas que se forman, los viriones se encuentran en vesículas prelisosomales. Posteriormente, hay una fusión de las membranas viral y endosomal, por efecto del pH ácido, que produce la liberación de la nucleocápside hacia el citoplasma (Rocha, 2005).

b. Entrada del virus dengue a la célula mediante la proteína E

Se ha demostrado que el primer blanco de este virus en humanos son las células dendríticas de la piel, que funcionan como centinelas del sistema inmune. Durante la salivación del artrópodo, las partículas virales son liberadas en la dermis y las células dendríticas de Langerhans las interiorizan. El virus infecta estas células, se replica en ellas e induce su activación y la producción de citocinas proinflamatorias. La activación y maduración de estas células es crítica en la respuesta antiviral; sin embargo, también contribuye a la diseminación del virus cuando éstas migran a los ganglios linfáticos (Rodríguez-Mandoz, 2010).

Adicionalmente, se conoce bien que el virus del dengue reduce la capacidad de las células dendríticas para producir interferón tipo I (IFN-I), el cual se dispara normalmente en respuesta a diversos inductores como infecciones por otros virus o por la exposición a poli (I:C), ligando de toll-like receptor 3 (TLR-3). Lo anterior claramente indica que el virus del dengue antagoniza la vía de producción de IFN-I en células dendríticas humanas y constituye en sí un mecanismo de evasión de la respuesta inmune. El efecto inhibitorio del IFN-I hacia el virus del dengue es dependiente de dosis, requiere de la replicación viral y se puede observar en las células dendríticas desde las 2 horas posteriores a la infección (Morrison, 2012).

La proteína E de los *Flavivirus*, se encuentra en forma dimérica cuando no está expuesta a pH bajo. La molécula, cuya dimensión más larga descansa paralela a la superficie viral, probablemente forma una red sobre el lado externo de la membrana lipídica. La cristalografía de la proteína muestra al

dímero, acoplado en disposición de cabeza a cola, con la forma de un bastón de 170 Å que está anclado en la bicapa lipídica por ambos extremos, es decir que de la proteína no sobresalen espículas o proyecciones largas (Rocha, 2005).

En la proteína E también se encuentra una región intramolecular fuertemente conservada (residuos 98 a 111) que se ha propuesto como la secuencia característica del “péptido de fusión”, pero no está tan aparentemente expuesta en la estructura dimérica. Se sabe que la estructura de la unidad fusogénica activa es probablemente, un trímero de la proteína E, la cual se forma por la reorganización de la superficie del virión bajo la exposición al pH ácido (Rocha, 2005).

Está comprobado, que las mutaciones en esta proteína tienen efectos importantes en la patogénesis viral, puesto que los diferentes serotipos del virus del dengue presentan variación antigénica en dicha proteína. Este fenómeno de viabilidad biológica se ha demostrado en otros miembros del género *Flavivirus* como en la encefalitis japonesa, la fiebre amarilla y la encefalitis de San Luis (Rocha, 2005).

c. Los receptores para los *flavivirus* y para el virus del dengue

El tropismo viral se define frecuentemente a nivel de la entrada del virus a una célula y depende de los receptores de la célula huésped, los cuales interaccionan con las proteínas de unión viral, por lo cual son un determinante clave en la susceptibilidad celular. Sin embargo, el número de receptores que han sido identificados en células como neuronas, para los virus neurotrópicos y los *Flavivirus*, es pequeño (Rocha, 2005).

La entrada de los *Flavivirus*, en células permisivas de las líneas celulares derivadas de mamíferos, de aves y de artrópodos como los mosquitos, aparentemente sucede por un mecanismo endocítico; aunque se han encontrado evidencias de un proceso de penetración alterno a través de la fusión directa con la membrana plasmática. Los receptores celulares, específicos para las glicoproteínas virales de los *Flavivirus* y en especial del virus del dengue, no se han identificado. Se desconoce además si estos virus emplean únicamente un receptor de tipo ubicuo o varios receptores diferentes (Rocha, 2005).

Se ha demostrado que la adherencia inicial del virus de la encefalitis, transmitido por garrapatas (TBEV), a las células eucarióticas, está mediada posiblemente por la glicoproteína viral “E”, la cual tiene la región conservada (residuos 98 a 111) que también se encuentra en las proteínas “E” de

otros *Flavivirus* conocidos. La región participa en la fusión de membranas, inducida a un cambio conformacional por un pH ácido, lo que confirma que la glicoproteína tiene un papel en el proceso de entrada (Rocha, 2005).

Datos similares se han obtenido con el virus del dengue serotipo 4, el cual se une selectivamente a células Vero y LLC-MK2, además de que la unión se ha correlacionado con la susceptibilidad celular. Se ha demostrado que la unión directa de la proteína "E" de éste serotipo, es a través de una interacción específica con la célula, lo que ha sugerido que el tropismo del virus puede estar determinado, por lo menos en estas células, por la presencia de un receptor para la proteína "E". Recientemente se ha reportado que el virus del dengue tipo 4 se une específicamente a dos glicoproteínas de 40 y 45 kDa localizadas sobre la superficie de la línea de células provenientes de mosquito, C6/36. Se ha sugerido que es probable la participación de un receptor diferente o de varios receptores, presentes en ambientes distintos sobre la superficie celular en las dos líneas celulares (Rocha, 2005).

d. Respuesta inmunológica del huésped

El virus del dengue penetra a través de la piel durante la picadura de un mosquito infectado. Durante la fase aguda de la enfermedad, el virus está presente en la sangre y su liberación a este compartimiento, generalmente, coincide con el descenso de la fiebre. Se considera que las respuestas inmunitarias humorales y celulares contribuyen a la liberación del virus mediante la generación de anticuerpos neutralizadores y la activación de los linfocitos T CD4+ y CD8+. Además, la defensa innata del huésped puede limitar la infección causada por el virus. Después de la infección, los anticuerpos de reacción específica para el serotipo y los de reacción cruzada, y las células T CD4+ y CD8+, pueden detectarse y medirse durante años (OMS, 2009).

i. Interferones tipo I

Los IFN-I conducen al establecimiento del estado antiviral que restringe la diseminación del virus en las células del hospedero. Mediante su unión al receptor de interferón α/β (IFN- α/β) en la superficie celular, estas citocinas inducen una respuesta de resistencia a la replicación viral. Este evento se lleva a cabo mediante la activación de la cascada de señalización mediada por Janusactivatedkinase-nuclear signaltransducer and activator of transcription (JAK-STAT), que induce la expresión de los genes interferon-stimulated genes (ISG). La unión del IFN-I a su receptor

produce la activación de los factores STAT-1 y STAT-2, que forman heterodímeros en su asociación con interferonregulatory factor 9 (IRF-9), para formar IFN-stimulated gene factor 3 (ISGF-3). Este factor se une específicamente a los elementos de respuesta estimulados por interferón (ISRE) localizados en los promotores de los genes antivirales. A pesar de los niveles significativos de IFN-I inducidos, en las células dendríticas infectadas se producen partículas de DENV masivamente, debido a la actividad antagónica que tiene el DENV sobre el IFN-I, lo cual resulta de la interferencia con la señalización mediada por STAT (Ho, 2005).

Las 10 proteínas virales del DENV que antagonizan la respuesta de IFN-I, inducen un aumento en la replicación de variantes virales sensibles a los IFN. Además, especialmente NS4B produce una intensa disminución de la expresión del gen para IFN- β . En células infectadas con DENV o en las que expresan NS4B no se pudo identificar la forma activada de STAT-1, aun en presencia de IFN- β o interferón γ (IFN- γ), lo que indica que NS4B participa en el bloqueo de la señalización durante la infección por DENV. En células VERO, la expresión de la proteína NS4B del DENV fue suficiente para inhibir la activación de STAT-1 inducida por IFN- β , aunque las proteínas NS2A y NS4A también contribuyen a producir este efecto (Muñoz-Jordan, 2005).

También se ha demostrado que la NS5 se une a STAT-2 e induce su degradación en los proteasomas. STAT-2 es también un componente clave en la protección contra la infección por DENV, ya que no es suficiente inactivar la función de STAT-1 para neutralizar la respuesta antiviral durante la infección (Perry, 2011).

Finalmente, la evidencia indica que la inhibición de la respuesta de IFN-I mediada por la infección con el DENV en células dendríticas humanas requiere del complejo catalítico NS2B3 activo para antagonizar completamente la producción de IFN-I.

ii. Respuesta citotóxica y fagocítica

Las células NK detectan la presencia de moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I en la superficie celular. La carencia o una expresión baja de las mismas induce la eliminación de la célula por una de estas dos vías: la vía secretora, que es dependiente de granzimas (Serina proteasas que son liberadas por gránulos citoplasmáticos dentro de las células T citotóxicas y NK), y la vía no secretora, que depende de Fas (CD95), que son además señales de activación de la apoptosis (Goldsby, 2007).

Está claro que diversos flavivirus inducen sobreexpresión de moléculas del MHC de clase I en la superficie celular para evadir la actividad de las células NK. Se ha demostrado que la transfección celular con un replicón compuesto solo por las proteínas no estructurales del DENV (NS1 a NS5) es suficiente para producir este fenómeno¹⁰, lo cual indica que alguna de estas proteínas afecta a la producción del MHC de clase I (Goldsby, 2007).

Adicionalmente, las células NK tienen receptores para la porción Fc de la inmunoglobulina G (IgG) que posibilitan la unión de anticuerpos específicos hacia componentes virales en una infección secundaria. En el dengue se ha reportado una rápida activación de células NK contra células infectadas por el DENV y su eliminación tanto por citólisis directa como por citotoxicidad dependiente de anticuerpos. Adicionalmente, al activarse las células NK producen IFN- β , que es también un efector importante de la respuesta antiviral y que participa en la activación de los macrófagos (Azeredo, 2006).

El DENV se replica eficientemente en varios tipos celulares, entre ellos en los monocitos/macrófagos, por lo que la infección de estas células puede afectar a la respuesta proinflamatoria y a la fagocítica. En ratones infectados por DENV, se observa que tanto los macrófagos del bazo como los de la cavidad peritoneal disminuyen su actividad fagocítica. Los macrófagos activados producen óxido nítrico (NO), que es un mediador de la inflamación y un efector importante de la destrucción de las partículas virales fagocitadas, así que la afección de estas actividades favorece la diseminación viral (Charnsilpa, 2005).

iii. Sistema del complemento

El complemento representa un importante mecanismo efector tanto a nivel de la respuesta inmune innata (vía alternativa y vía de la lectina) como de la respuesta inmune adaptativa (vía clásica). La fijación de complemento media la eliminación de algunos microorganismos a través de la formación del complejo de ataque a la membrana (membraneattackcomplex [MAC]).

En el suero la proteína viral NS1 se une al componente C4 y este evento induce su degradación mediante la proteasa específica del complemento CR1, evitándose así la acumulación de C4b que contribuye a la formación de C3 convertasa (C4b2a) y a la formación del MAC.

En los pacientes con FHD y SCD se ha reportado un descenso importante en los niveles plasmáticos de C3, C4 y factor B18. Sin embargo, estudios recientes indican que en las células endoteliales

infectadas por el DENV, la producción del factor B aumenta por lo menos 34 veces. En una infección secundaria el daño al endotelio puede ser producido por la fijación del complemento mediante la vía clásica, debido a la unión de anticuerpos a la NS1 en la superficie de las células endoteliales, o por reacción cruzada con las proteínas de superficie del endotelio.

Las concentraciones de los factores H y D en el plasma de pacientes con FHD corresponden a las que favorecen la formación de la C3 convertasa, mientras que en pacientes con FD se han encontrado aquellas que inducen su inhibición. Los componentes H y D contribuyen, en la vía alternativa del complemento, a la regulación de la formación de la C3 convertasa (C3bBb) de manera independiente de anticuerpos (Castro-Mussot, 2013).

iv. Activación de linfocitos T

Los linfocitos T CD4+ activados por los péptidos presentados en moléculas de clase II del MHC proliferan y secretan citocinas que polarizan la respuesta hacia las células efectoras más adecuadas para la eliminación del patógeno, T helper 1 (Th1), T helper 2 (Th2), T helper 17 (Th17) o incluso células T reguladoras (Treg). Como en las células dendríticas humanas infectadas con el DENV no hay inducción de la producción de IFN-I, queda afectada también la capacidad de activación de células T naive hacia una respuesta de tipo Th1. Además, se ha reportado que las células dendríticas infectadas con el virus del DENV-2 son incapaces de inducir la diferenciación de la población de células CD4+ productoras del IFN- γ (Chase, 2011).

En los pacientes con FD se presenta activación celular de linfocitos T CD4+ y CD8+ desde el momento de la manifestación de los síntomas, aunque se ha encontrado que muy pocos linfocitos CD8+ son específicos y que además están programados para apoptosis. Los linfocitos T CD8+ que son específicos para las proteínas del DENV responden a la activación produciendo IFN- γ y factor de necrosis tumoral α (TNF- α), además de expresar el marcador de degranulación CD107a en la superficie celular y exhibir actividad citotóxica *in vivo*. En las infecciones secundarias es clara la activación de los linfocitos T CD8+ de memoria con reactividad cruzada entre los diferentes serotipos. Adicionalmente, se ha documentado que durante el periodo de defervescencia ocurre una apoptosis significativa de las células mono nucleares de sangre periférica en los pacientes con FHD (Myint, 2006).

v. Respuesta mediada por anticuerpos

En el 80% de los individuos infectados se ha detectado la presencia de anticuerpos inmunoglobulina M (IgM) específicos entre el día 5 y 10, y en el 99% de los pacientes estos persisten hasta dos o tres meses después de la infección. La respuesta mediada por IgG hacia la infección por DENV puede perdurar durante décadas 34. Los anticuerpos generados son específicos, pero en las formas graves se presenta reactividad cruzada con los diferentes serotipos (Castro-Mussot, 2013).

El dengue grave también se observa regularmente durante la infección primaria de lactantes cuyas madres son inmunes al dengue. En el dengue, la amplificación dependiente de anticuerpos se ha considerado hipotéticamente como un mecanismo para explicar el dengue grave en el curso de una infección secundaria y en lactantes con infecciones primarias. En este caso, los anticuerpos reactivos cruzados, no neutralizadores, que se aumentan durante una infección primaria o que se adquieren pasivamente en el nacimiento, se adhieren a los epítomos en la superficie de un virus infeccioso heterólogo y facilitan su entrada a las células portadoras del receptor Fc. Se espera que el aumento en el número de células infectadas resulte en una mayor carga viral y la inducción de una sólida respuesta inmunitaria del huésped, que incluye citocinas y mediadores inflamatorios, algunos de los cuales pueden contribuir a la extravasación de plasma. Durante una infección secundaria, las células T de memoria de reacción cruzada también se activan rápidamente, proliferan, expresan citocinas y mueren por apoptosis en una manera que, generalmente, se correlaciona con la gravedad general de la enfermedad (OMS, 2009).

Según la Organización Mundial de la Salud (2009) los datos recientes sugieren que la activación de las células endoteliales podría mediar la extravasación de plasma, lo cual está más asociado con los efectos funcionales que los destructivos en las células endoteliales. De igual manera en la disfunción de dichas células están involucrados la activación de los monocitos infectados, células T, el sistema del complemento y la producción de mediadores, monocinas, citocinas y receptores solubles.

Debido a la infección de las células hematopoyéticas humanas, la trombocitopenia puede estar asociada con alteraciones en la megacariocitopoyesis. Esta infección en conjunto con el deterioro del crecimiento de células progenitoras, resulta en disfunción plaquetaria (activación y agregación de plaquetas), mayor destrucción o consumo (secuestro o consumo periférico). La hemorragia puede ser consecuencia de la trombocitopenia y la disfunción plaquetaria asociada o de la coagulación intravascular diseminada (OMS, 2009).

En resumen, ocurre un desequilibrio transitorio y reversible de los mediadores, citocinas y quimiocinas durante el dengue grave, impulsado probablemente por una elevada carga viral temprana, lo que conduce a disfunción de las células endoteliales vasculares, trastorno del sistema de hemocoagulación, y, luego, a extravasación de plasma, choque y sangrado (OMS, 2009).

La recuperación de una infección deja una inmunidad sólida para el serotipo homólogo que tiene carácter permanente. La inmunidad heteróloga es considerable en períodos iniciales pero desaparece con bastante rapidez. Entre dos y nueve meses, una segunda infección por un serotipo distinto origina una forma más benigna y modificada de la enfermedad, y de más corta duración. Esta es la forma más frecuente en lugares donde los diferentes tipos de dengue son endémicos. Aunque los cuatro serotipos del dengue son antihigiénicamente distintos, existe evidencia de que pueden existir subcomplejos serológicos en cada grupo. Así, DEN-1 y DEN-2 comparten algunos determinantes antigénicos, según pruebas de neutralización e inmunofluorescencia mediante anticuerpos monoclonales. Usando técnicas de hibridización con cDNA se ha demostrado una relación genética estrecha entre DEN-1 y DEN-4. El DEN-2 ha mostrado secuencias homólogas con otros serotipos y con otros flavivirus (Blandon, 2006).

Los anticuerpos neutralizantes aparecen varios días después del inicio de la enfermedad y persisten durante meses o, quizás, durante años. Los anticuerpos fijadores del complemento aparecen también en forma precoz pero no son detectables hasta algunos meses después. Los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (IH) aparecen al mismo tiempo que los fijadores del complemento y son fáciles de detectar. No existe inmunidad cruzada significativa entre el dengue y la fiebre amarilla (Blandón, 2006).

8. Diagnóstico

Se ha elaborado una serie de métodos de diagnósticos de laboratorio para apoyar al manejo del paciente y el control de la enfermedad. La selección del método de diagnóstico depende del propósito para el cual se realizan las pruebas (por ejemplo, diagnóstico clínico, estudio epidemiológico, desarrollo de vacunas), el tipo de laboratorio y la experiencia y conocimientos técnicos disponibles, los costos y el tiempo de recolección de las muestras. Existen técnicas directas e indirectas para la demostración viral en el laboratorio.

- a. Diagnóstico directo:
- i. Pruebas que visualizan la partícula viral o su efecto celular específico como las tinciones para microscopía de luz, la microscopía electrónica y el cultivo o aislamiento viral (los más empleados son cultivos primarios, cepas de células diploides y líneas celulares).
 - ii. Pruebas para demostración de antígenos virales, que permiten descubrir y caracterizar un virus en cultivo celular cuando todavía no se produce el efecto citopático, o éste no es evidente o en los casos en que el virus se debe reconocer por otras propiedades o características en cultivo: la hemadsorción, la inmunofluorescencia directa (IFA), radioinmunoensayo (RIA) o inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA o EIA) y las pruebas de látex.
 - iii. Pruebas que evidencian o descubren el material genético específico viral conservado y replicable ya sea que se encuentre en un fluido, en una célula o tejido, ya sea activo o latente: ensayos de amplificación genética (reacción en cadena de la polimerasa, PCR; Reacción en cadena de la ligasa o LCR, Sistema QB replicasa, ADN ramificado (branched) o bADN) e hibridización (sondas) (Acosta & Gómez, 2005).

b. Diagnóstico indirecto

Estos ensayos se clasifican en tres grupos con base a la cuantificación de la reacción antígeno-anticuerpo (Acosta-Bas, 2005).

- i. Los que dependen de la capacidad del anticuerpo que se une al antígeno para ejercer alguna función no relacionada con el virus, por ejemplo: la fijación del complemento (FC), hemaglutinación indirecta (HI), aglutinación por látex.
- ii. Los que miden la capacidad de los anticuerpos para bloquear la función viral específica como la neutralización, la inhibición de la hemaglutinación (IH), la inhibición de la neuraminidasa (que mide la capacidad de los anticuerpos para bloquear la infectividad viral), la hemaglutinación viral y la actividad de neuraminidasa.

- iii. Los que miden directamente la interacción antígeno-anticuerpo como por ejemplo: la IFA indirecta, el RIA, ELISA, Inmunoblot y Western blot (Acosta & Gómez, 2005).

c. Pruebas rápidas

Se han implementado numerosas pruebas rápidas para el diagnóstico del dengue. El disponer de métodos rápidos, seguros y confiables es de gran importancia para lograr una vigilancia adecuada que permita el control del vector y el cese de la transmisión viral (Guzmán, 2006). Estas pruebas rápidas son útiles para el diagnóstico rápido y entre sus ventajas más importantes se puede mencionar que su realización es sencilla, ágil (tarda menos de una hora) y no requiere equipos ni laboratorio especializados (Valdez, 2012).

Entre los métodos rápidos más utilizados está la inmunocromatografía. En los últimos años se ha evaluado una prueba presuntiva de diagnóstico rápido por inmunocromatografía en tira (PANBIO®, Rapid Dengue Test). Sin embargo, a pesar de sus ventajas, se ha registrado una gran variación en las características operativas de la prueba. Su sensibilidad ha oscilado entre 45% y 100%, y su especificidad entre 57% y 100%, variaciones que se han atribuido principalmente al momento de la enfermedad en el que se toman las muestras. Una presentación nueva de esta prueba es el casete, que emplea una menor cantidad de suero o sangre total y no requiere dilución de la muestra. Esta prueba, de menor complejidad, podría aplicarse durante la consulta inicial y orientar las intervenciones tempranas del síndrome febril agudo (Acosta-Bas, 2005).

Esta prueba se probó en un estudio en Colombia la cual mostró una alta reproducibilidad, buena especificidad, una sensibilidad aceptable entre las 72 y 96 horas de enfermedad y razón de verosimilitud positiva que eleva la probabilidad posterior a la prueba, razones por las cuales podría considerarse como una herramienta útil para la identificación temprana de pacientes con dengue que permita orientar el manejo del síndrome febril agudo en áreas endémicas (Martínez, 2009).

Recientemente se han desarrollado y evaluado sistemas comerciales con formato ELISA para el diagnóstico del dengue y pruebas rápidas para la detección de la proteína NS1 al virus dengue. Uno de estos sistemas comerciales es el SD Dengue Duo de la firma StandardDiagnostics, el cual

además de la detección de la proteína NS1 permite la detección de los anticuerpos IgM e IgG contra el dengue. Su diseño ofrece grandes ventajas, porque puede utilizarse en muestras colectadas en diferentes etapas clínicas, desde la fase aguda hasta la fase convaleciente (Valdez, 2012).

Lo ideal en un procedimiento diagnóstico es la detección de antígenos virales en muestras clínicas, seguido por su identificación. El aislamiento y tipificación de virus permite la detección e identificación específica del dengue, pero su sensibilidad depende mucho de una adecuada recolección y conservación de la muestra, y requiere de 5 a 10 días para dar resultados apareados. El método más sensible, rápido y económico de identificación del virus es mediante la inmunofluorescencia indirecta, utilizando anticuerpos monoclonales específicos contra los cuatro serotipos del virus. (Martínez, 2006)

d. Las metodologías utilizadas para el diagnóstico de dengue en el Laboratorio Nacional de Salud de Guatemala (LNS) son: (Díaz, 2009).

i. Cultivo Viral

Las muestras para el aislamiento del virus se deben obtener al principio del curso de la infección, durante el período de la viremia (generalmente, antes del día 5). El virus se puede recuperar del suero, el plasma y las células mononucleares del sangro periférico, y se puede intentar recuperarlo de los tejidos tomados en la autopsia (por ejemplo, hígado, pulmón, ganglios linfáticos, médula ósea). Debido a que el virus del dengue es lábil al calor, las muestras que se van a transportar al laboratorio se deben mantener en un refrigerador o deben empacarse en hielo húmedo. Si las muestras se van a almacenar hasta por 24 horas, se deben conservar entre +4 °C y +8 °C. Para tiempos de almacenamiento más prolongados, se deben congelar a -70 °C en un congelador hondo o almacenarse en un recipiente de nitrógeno líquido. No se recomienda el almacenamiento a -20 °C, ni por períodos cortos. El cultivo celular es el método más utilizado para el aislamiento del virus del dengue (OMS, 2009).

ii. RT-PCR en tiempo real

La prueba de RT-PCR en tiempo real es un sistema de ensayo de un solo paso que se utiliza para cuantificar el ARN viral y que emplea pares de cebadores y sondas que son específicos para cada

uno de los serotipos del dengue. El uso de una sonda fluorescente permite la detección de los productos de la reacción en tiempo real, en una máquina de PCR especializada, sin necesidad de electroforesis. La RT-PCR en tiempo real puede ser "singleplex", es decir, solo detectan un serotipo a la vez, o "multiplex", es decir, son capaces de identificar los cuatro serotipos en una sola muestra. Los ensayos multiplex tienen la ventaja de que una sola reacción puede determinar los cuatro serotipos sin la posibilidad de introducir contaminación durante la manipulación de la muestra. Sin embargo, aunque los ensayos multiplex de RT-PCR en tiempo real son más rápidos, actualmente son menos sensibles que los ensayos de RT-PCR anidado. Una ventaja de este método es la capacidad de determinar el título viral en una muestra clínica, la cual se puede usar para estudiarla patogenicidad de la enfermedad del dengue (OMS, 2009).

- iii. ELISA de captura para la detección de anticuerpos IgM e IgG. ELISA manufacturado en el LNS, estandarizado por CDC de Puerto Rico.

Para la captura de anticuerpos IgM por MAC-ELISA, la IgM total en los sueros de los pacientes se captura mediante anticuerpos específicos para IgM humana revestidos en un microplato o pocillo. Los antígenos específicos del dengue, de uno a cuatro serotipos (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4), están ligados a los anticuerpos IgM anti-dengue capturados y son detectados mediante anticuerpos monoclonales o policlonales del dengue, directa o indirectamente conjugados con una enzima que transforma un sustrato sin color en productos con color. La densidad óptica se mide mediante espectrofotómetro. La prueba ELISA IgG se usa para la detección de infecciones por dengue recientes o pasadas (si se recolectan sueros pareados dentro del período correcto). Esta prueba usa los mismos antígenos que la prueba MAC-ELISA. El uso de ELISA para la captura de IgG (GAC) específico para envoltura y membrana permite la detección de anticuerpos IgG durante un período de 10 meses después de la infección (OMS, 2009).

- iv. Detección de NS1 por ELISA.

Nuevos avances en ELISA y técnicas de hibridación en punto mancha dirigidos al antígeno de la envoltura y membrana y la proteína 1 no estructural (NS1), demostraron que se pueden detectar altas concentraciones de estos antígenos en forma de complejos inmunitarios tanto en casos de infección primaria como en secundaria, hasta nueve días después de la aparición de la enfermedad. La glucoproteína NS1 es producida por todos los flavivirus y secretada por las células de mamíferos. La NS1 produce una respuesta humoral muy fuerte. Muchos estudios han estado dirigidos a detectar

la NS1 para hacer un diagnóstico temprano de infección por el virus del dengue. Los kits comerciales para la detección del antígeno NS1 ya se encuentran disponibles, aunque no distinguen entre los serotipos del dengue. Su rendimiento y utilidad están siendo actualmente evaluados por diferentes laboratorios a escala mundial, incluyendo la red de laboratorios deWHO/TDR/PDVI (Vignoli, 2006).

v. Enzimas de restricción.

Se digiere el fragmento genómico del virus del Dengue obtenido por RT/PCR usando los primer universales de dengue D1 y D2, con un panel de enzimas de restricción. Los fragmentos producto de la digestión son visualizados por electroforesis de agarosa, constituyendo un patrón de restricción, que puede ser observado en presencia de luz UV, y analizado de esa forma sin necesidad de un aditamento adicional o programa computarizado. El procedimiento es útil para estudiar aislamientos de cepas de dengue, debido a que la banda de amplificación de la RT-PCR a partir de muestras clínicas, generalmente no se visualiza, por lo que no es útil para su restricción con enzimas y definir patrones.

Todas estas metodologías se utilizan según el tiempo que ha transcurrido desde el día de inicio de síntomas hasta el día de toma de muestras.

El diagnóstico diferencial incluye todas las enfermedades epidemiológicamente importantes incluidas bajo los rubros de fiebres víricas transmitidas por artrópodos, además de sarampión, rubéola y otras enfermedades febriles sistémicas (Blandón, 2006).

9. Tratamiento médico de pacientes con dengue

Hasta el momento no existe tratamiento antiviral específico. El tratamiento de las formas no complicadas, radica en indicar reposo, mantener hidratado al paciente (pueden utilizarse las sales de rehidratación oral) y administrar paracetamol, cuando el dengue adquiere la forma “rompe-hueso”, es necesario en los primeros días, recurrir a la dipirona (Arbo, 2011).

No existe ninguna vacuna disponible comercialmente y es improbable la disponibilidad de una vacuna efectiva contra los 4 serotipos de dengue en los próximos 10 años. Hace más de 20 años se trabaja en la obtención de una vacuna contra los 4 serotipos de dengue. La formulación más

adelantada está constituida por virus atenuados contra los 4serotipos del virus, aún en fase de estudio de campo (OMS, 2009).

El control del vector es en estos momentos, la única alternativa para detener la propagación de la enfermedad (Gómez, 2007).

El tratamiento del dengue clásico, responde básicamente a las manifestaciones de síntomas que refiere el paciente, o a los signos que el médico puede evaluar. Por lo regular el medicamento más importante que se utiliza es el acetaminofén. Debido a que es un analgésico antipirético. Otros medicamentos para dolor y fiebre no están aconsejados, debido a que si el dengue clásico pasa a ser una enfermedad más agresiva, hay medicamentos como la aspirina que complicarían el cuadro hemorrágico (Blandón, 2006).

IV. JUSTIFICACIÓN

El dengue se ha convertido en un problema de salud pública, principalmente en las zonas tropicales y subtropicales de América; en la sociedad, los bajos recursos económicos son los factores más importantes que predisponen el aumento de casos de esta enfermedad (Navarrete, 2002).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1998 consideró al dengue como la décima causa de muerte en el mundo por enfermedades infecciosas y actualmente, se reconoce al dengue como la enfermedad viral transmitida por mosquito de más rápida propagación en el mundo, aumentando su incidencia, treinta veces más en los últimos cincuenta años (OMS,2009).

En las Américas, las zonas del Caribe, Centro y Sur; son las que presentan brotes cíclicos cada tres a cinco años iniciados por falta de control y medidas de vigilancia efectiva y consistente(OMS, 2009).

Son todos estos, factores que motivan este estudio, ya que, como país catalogado como zona de riesgo, se dispone de muy poca información sobre la situación actual del dengue y se cree que es de suma utilidad orientar a la población que sufre año con año esta enfermedad que la incapacita temporalmente en su accionar productivo diario, además del desgaste del sistema de salud pública, que debe invertir largos períodos de tiempo para atender las “emergencias” que siempre se dan en la estación lluviosa; por lo anterior, se escogieron estas aldeas ya que son áreas tropicales y no cuentan con estudios previos. Se espera que este trabajo reoriente la toma de decisiones del sistema de salud nacional y que también sirva a la población para tomar una actitud de prevención efectiva, que es la vía más rápida y económica para enfrentar exitosamente cualquier brote de esta enfermedad que amenace la calidad de vida de la ciudadanía.

V. OBJETIVOS

A. General

Determinar la prevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti-dengue en habitantes de las aldeas Monterrico y La Candelaria, Taxisco, Santa Rosa.

B. Específicos

1. Establecer si las infecciones por el virus del dengue en la población de las aldeas Monterrico y La Candelaria, Taxisco, Santa Rosa; son primarias o secundarias según el tipo de inmunoglobulina presente.
2. Determinar los factores de riesgo asociados a la infección por el virus del dengue en la población de las aldeas Monterrico y La Candelaria, Taxisco, Santa Rosa.

VI. HIPÓTESIS

Este trabajo corresponde a un estudio transversal, por lo tanto no contempla hipótesis.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Habitantes de las aldeas Monterrico y La Candelaria, Taxisco, Santa Rosa; perteneciente a cualquier grupo étnico, sexo, edad, oficio, nivel socioeconómico o zona de residencia (central o alrededores).

B. Muestra

Todas las personas que habiten las casas seleccionadas en ambas aldeas (Anexo 1). En caso de no estar presente alguna persona que habite en la casa, al momento del muestreo, se regresará posteriormente para obtener las muestras faltantes.

C. Criterios de inclusión y exclusión

1. Criterio de inclusión:

Todas las personas que habiten las casas seleccionadas, no importando género ni edad.

2. Criterio de exclusión:

Todas las personas que se nieguen a participar voluntariamente y que no firmen el consentimiento informado entregado previamente (Anexo 2).

D. Tipo de estudio

Según el tipo y secuencia: estudio prospectivo, transversal y descriptivo.

E. Recursos

1. Recursos Humanos

El proyecto de investigación será realizado por los seminaristas de investigación: Eliseo Josué Albanés Gómez y Diego Enrique Rivera Ayala, y como asesor el licenciado Gerardo Arroyo.

2. Procedimientos

a. Extracción de Sangre Venosa

- Lavarse las manos y colocarse guantes estériles.
- Colocar el torniquete e indicar al paciente que empuñe su mano.
- Limpiar la zona con alcohol al 70%, de forma circular.
- Realizar la venipunción con sistema Vacutainer.
- Retirar el sistema, el torniquete y colocar un algodón sin presionar la punción.
- Encapuchar la aguja adecuadamente y descartarla como desecho infectocontagioso.

Para establecer la presencia de anticuerpos IgG e IgM en las muestras de suero, se utilizaron tres pruebas de diferente principio. La primera prueba es un examen rápido en placa de Dengue IgG/IgM Rapid® (Anexo 3) realizada en el laboratorio del departamento de Citohistología de la escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Para confirmar los resultados de las pruebas rápidas se corrieron las pruebas de ELISA tanto en Tailandia, enviándolas a Mahidol University, como en el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) de Guatemala. Ambos laboratorios corrieron muestras positivas y un porcentaje de muestras negativas para el control de calidad.

b. Corrida de la prueba rápida: examen rápido en placa de dengue IgG/IgMRapid®

- Lleve el producto a temperatura ambiente antes de abrirlo. Retire la placa del empaque de aluminio y utilícelo tan pronto como sea posible.
- Coloque la placa del examen en una superficie limpia y nivelada.
- Sosteniendo verticalmente la pipeta, tomar aproximadamente 5 microlitros de suero y transferir la muestra al pozo de la muestra (S) de la placa del examen luego añada 3 gotas de buffer (aproximadamente 90 microlitros) y empiece a cronometrar.
- Espere por la aparición de línea (s) roja (s). Los resultados deben ser leídos en 10 minutos. No leer el resultado después de 15 minutos.

c. Corrida de la prueba ELISA de IgG contra virus del dengue FocusDiagnostics®

- Permita que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente antes de usar. Saque el paquete de pocillos de del refrigerador. Para evitar condensación, permita que las tiras de

pocillos alcancen temperatura ambiente antes de abrir el paquete de papel de aluminio. Si va a usar menos de una placa, devuelva las tiras sin usar al paquete con desecante y vuelva a sellarlo completamente. Conserve los pocillos de antígeno sin usar en 2 a 8°C. (Nota: Al final de la prueba, guarde el marco para usarlo con las tiras restantes.)

- Llene los pocillos con solución tampón de lavado 1X y deje en remojo por 5 minutos. Decante (o aspire) las pocillos de antígeno y sacuda vigorosamente para quitar el tampón de lavado. Seque los pocillos de antígeno vacíos boca abajo con toallas de papel limpias o con papel absorbente para quitar el tampón de lavado residual.
- Dispense 100 µL del diluyente de muestra en las pocillos de “blanco” y 100 µL de cada espécimen diluido, control o calibrador (vea Preparación del espécimen, Controles y Calibrador, arriba) en las pocillos apropiados. (Nota: En series de más de 48 pocillos se recomienda que primero se añadan 250 µL de cada muestra diluida en una placa de microtítulo en blanco en la posición correspondiente a aquélla de los pocillos de ELISA. Entonces las muestras se pueden transferir eficientemente a los pocillos de antígeno con una pipeta de 8 a 12 canales.)
- Cubra las placas con cinta selladora (o coloque en una cámara húmeda), e incube por 60 ± 1 minutos a temperatura ambiente (20 a 25°C).
- Quite la cinta selladora (o remueva las pocillos de la cámara húmeda), y vacíe el contenido de las pocillos en el fregadero o recipiente de desechos.
- Llene cada pocillo con un chorro delicado de solución tampón de lavado 1X de una botella de lavado y luego vacíe el contenido en el fregadero o recipiente de desechos.
- Repita el paso de lavado (paso 6) dos veces más y permita que el último lavado permanezca por cinco minutos antes de decantar o aspirar.
- Sacuda vigorosamente los pocillos de antígeno para eliminar el tampón de lavado 1X. Coloque los pocillos vacíos de antígeno boca abajo en toallas de papel limpio o papel absorbente para eliminar el tampón de lavado 1X residual.
- Dispense 100 uL de conjugado en todos los pocillos, usando una pipeta de 100 µL con 8- o 12-canales.
- Cubra las placas con cinta selladora e incube por 30 ± 1 minutos a temperatura ambiente (20 a 25°C).
- Repita los pasos de lavado 5 al 8.

- Pipetée 100 μ L de reactivo de sustrato en todos los pocillos, usando una pipeta de 100 μ L con 8- o 12-canales. Comience a medir el tiempo de incubación con la adición del reactivo de sustrato a la primera pocillo. (Nota: Nunca coloque el reactivo de sustrato en el mismo recipiente que fue usado para el conjugado.)
- Incube por 10 ± 1 minutos a temperatura ambiente (20 a 25°C).
- Pare la reacción añadiendo 100 μ L de reactivo de paro a todos los pocillos usando una pipeta de 100 μ L con 8 ó 12 canales. Añada el reactivo de cese en la misma secuencia y al mismo ritmo que fue añadido el sustrato. En los pocillos de anticuerpo positivo, el color debe cambiar de azul a amarillo.
- Seque cuidadosamente el fondo exterior de los pocillos con una toalla de papel para eliminar gotas que pudieran interferir con la lectura en el espectrofotómetro. No friccione con la toalla de papel ya que puede rayar la superficie óptica del pocillo. (Nota: Burbujas grandes en la superficie del líquido pueden afectar las lecturas).
- Mida la capacidad de absorción de cada pocillo antes de 1 hora desde que se cesó la reacción. Ajuste la longitud de onda del espectrofotómetro de microplacas a 450 nm. Ajuste el cero del instrumento con los pocillos de blanco.

d. Corrida de la pruebaELISA IgM por captura para virus del dengue
FocusDiagnostics®

- Diluya las muestras 1:101 en el diluyente de muestras. (p. ej., 10 μ L + 1000 μ L).
- Remoje los pocillos durante 5 minutos con solución de lavado 1X, decante.
- 100 μ Lde muestra e incube por 60 minutos, decante.
- Opcional para la sustracción del fondo: Se añaden 100 μ L de muestra diluida a cada uno de los dos pocillos siguientes: a un pocillo (el pocillo “Ag”, donde “Ag” significa antígeno) se le añade antígeno del DV en el paso 5 y al otro pocillo (el pocillo “DM”, donde “DM” significa diluyente de muestras). Se le añade diluyente de muestras en el paso 5. Nota importante: la sustracción del fondo es un método para determinar la presencia de anticuerpos heterófilos en las muestras con resultados positivos. Por lo tanto, no se debe realizar dicho procedimiento cuando el resultado inicial de la muestra del paciente no haya sido positivo.
- Lave 3 veces.
- 100 μ L de antígeno e incube por 60 minutos, decante.

- Opcional para la sustracción del fondo: Añada 100 μL de antígeno al pocillo "Ag" y 100 μL de diluyente de muestras al pocillo "DM"; incube durante 60 minutos.
- Lave 3 veces.
- 100 μL de conjugado e incube por 30 minutos, decante.
- Lave 3 veces.
- 100 μL de reactivo sustrato e incube por 10 minutos.
- 100 μL de reactivo de parada, lea a $\lambda = 450 \text{ nm}$.

e. Descarte de materiales

- El material biológico será descartado en bolsas rojas, las cuales indican la presencia de material bioinfeccioso.
- Los objetos punzocortantes, como capilares y agujas, serán colocadas en un recipiente adecuado, el cual permitirá su posterior manipulación para descarte.

D. Diseño de la investigación

1. Número de muestra

Se realizó el muestreo de 36 viviendas de las 209 que existen en la aldea Monterrico y 30 viviendas de las 123 viviendas en la aldea La Candelaria, (Anexo 1) para lo cual se trabajó con un nivel de confianza del 95% ($Z= 1.96$), tomando como límite de error de estimación el 15%. Los resultados se trataron con una variable binomial, determinando presencia o ausencia de anticuerpos IgG e IgM contra Dengue, asumiendo la máxima variabilidad ($\sigma = 0.25$).

2. Diseño de muestreo

La selección de viviendas se realizó de modo irrestricto aleatorio, se tomó muestra de todas las personas que habitan en cada vivienda seleccionada al azar (cumpliendo con un máximo de 200 personas, siendo la mitad correspondiente a cada aldea). La recolección de datos epidemiológicos e información sobre la población se obtuvieron del trabajo de investigación II "Indicadores de salud de las aldeas Monterrico y La Candelaria" realizado por los estudiantes de la carrera de Química Biológica el año 2012.

3. Análisis de resultados

Al obtener los resultados se determinó la prevalencia de anticuerpos positivos IgG e IgM anti-Dengue tanto individual como en conjunto sobre toda la población muestreada con un nivel de confianza del 95%.

Se manejaron los datos dividiéndolos por su respectiva aldea (Anexo 4). Se establecieron frecuencias de resultados positivos en cuanto a género, edad, salario mensual, tipo de techo de la vivienda, síntomas, la fuente de agua de la vivienda, material que está hecha la vivienda (techos, piso); frecuencia sobre las barreras que utilizan para la protección contra los mosquitos, en cuanto a la edad se establecieron máximos, mínimos y media aritmética.

Además se determinó el riesgo relativo entre las variables mencionadas para establecer cuáles eran los principales factores de riesgo en la población estudiada. Todos estos cálculos se obtuvieron haciendo uso del software EpiInfo 7.

Para el cálculo de los índices Kappa entre los resultados obtenidos por pruebas rápidas de inmunocromatografía y los ELISA realizados en Tailandia se utilizó el software Epidat 4.1.

4. Aspectos éticos de la investigación

Para este estudio se utilizó un consentimiento informado por cada familia (Anexo 2), en donde tanto el jefe de familia como cada integrante accedieron de forma voluntaria a participar en la investigación. No fue necesario pasar el estudio por un comité de ética por lo que se trabajó únicamente con el consentimiento informado en donde se detallaron los beneficios y la ausencia de riesgo al participar.

VIII. RESULTADOS

En este estudio se determinó la prevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti-Dengue en dos aldeas tropicales del municipio de Taxisco, Santa Rosa. Para esto se evaluó un total de 196 personas, 106 personas habitantes de la aldea de Monterrico y 90 personas habitantes de la aldea de La Candelaria. A la muestra obtenida de cada persona se le determinó la presencia de anticuerpos contra el virus del dengue mediante pruebas serológicas por inmunocromatografía. De igual manera se recolectaron datos personales importantes y algunos factores socioeconómicos que de una forma u otra intervienen en la transmisión del virus del Dengue.

En la Tabla 1 se muestran los resultados globales obtenidos en cada aldea, tanto por anticuerpo encontrado como porcentajes totales de seropositividad obtenidos. En Monterrico se encontraron 28 casos positivos correspondientes a un 26.4% (IC 95%: 18.02-34.81) y en La Candelaria se encontraron 22 casos positivos correspondientes a un 24.4% (IC 95%: 15.57-33.32).

Tabla 1. Resultados de muestras de las aldeas Monterrico y La Candelaria.

	Tipo de anticuerpo n(%) IC 95%			Seropositividad n(%) IC 95%		Total
	IgG	IgM	IgG/IgM	Positivos	Negativos	
Monterrico	8 (7.50) 2.52-12.58	18 (17.0) 9.83-24.13	2 (1.90) -0.70-4.48	28 (26.4) 18.02-34.81	68 (73.6)	106
La Candelaria	8 (8.90) 3.01-14.77	11 (12.2) 5.46-18.99	3 (3.30) -0.38-7.04	22 (24.4) 15.57-33.32	78 (75.6)	90
Total	16 (8.20) 4.33-12.00	29 (14.8) 9.83-19.77	5 (2.60) 0.34-4.76	50 (25.5) 19.41-31.62	146 (74.5)	196

Fuente: Datos Experimentales.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de igual manera de ambas aldeas según el género de las personas. En la aldea de Monterrico se encontraron 19 (29.2%) casos positivos femeninos y 9 (21.9%) masculinos, mientras que en la aldea de La Candelaria se encontraron 18 (32.7%) casos positivos femeninos y 4 (11.4%) masculinos.

Los porcentajes generales según género fueron 61.3% mujeres y 38.7% hombres en Monterrico y en La Candelaria 61.1% mujeres y 38.9% hombres, siendo la población en su mayoría del género femenino en ambas aldeas.

Tabla 2. Presencia de anticuerpos contra Dengue según género en Monterrico y La Candelaria.

	Género	Tipo de anticuerpo n(%)			Seropositividad n(%)		
		IgG	IgM	IgG/IgM	Positivos	Negativo	Totales
Monterrico	Femenino	7 (10.8)	11 (16.9)	1 (1.50)	19 (29.2)	46 (70.8)	65
	Masculino	1 (2.40)	7 (17.1)	1 (2.40)	9 (21.9)	32 (78.1)	41
	Total	8 (7.50)	18 (17.0)	2 (1.90)	28 (26.4)	78 (73.6)	106
La Candelaria	Femenino	5 (9.10)	10 (18.2)	3 (5.45)	18 (32.7)	37 (67.3)	55
	Masculino	3 (8.57)	1 (2.86)	0 (0.00)	4 (11.40)	31 (88.6)	35
	Total	8 (8.90)	11 (12.2)	3 (3.30)	22 (24.4)	68 (75.6)	90

Fuente: Datos Experimentales

En la Tabla 3 se muestran los resultados en base a la edad de cada persona. Se clasificaron en cuatro grupos etarios para manejar de una mejor manera los resultados obtenidos. Tanto en Monterrico como en La Candelaria se puede observar que se trata de poblaciones jóvenes, siendo el grupo etario de 13 a 45 años el de más personas y de igual manera el grupo que presenta una mayor seropositividad

En Monterrico el grupo de 13 a 45 años fue el que presentó una mayor seropositividad (31.6%) reportando 18 de 57 casos positivos, mientras que en La Candelaria fue el grupo de más de 65 años (36.4%) reportando 4 de 7 casos positivos.

Tabla 3. Presencia de anticuerpos contra Dengue según edad en Monterrico y La Candelaria.

	Edad (años)	Tipo de anticuerpo n(%)			Seropositividad n(%)		
		IgG	IgM	IgG/IgM	Positivos	Negativo	Totales
Monterrico	0-12	0 (0.00)	2 (12.50)	0 (0.00)	2 (12.5)	14 (87.5)	16
	13-45	7 (12.3)	10 (17.5)	1 (1.75)	18 (31.6)	39 (68.4)	57
	46-65	1 (5.00)	3 (15.00)	0 (0.00)	4 (20.00)	16 (80.0)	20
	>65	0 (0.00)	3 (23.10)	1 (7.70)	4 (30.80)	9 (69.2)	13
	Total	8 (7.50)	18 (17.0)	2 (1.90)	28 (26.4)	78 (73.6)	106
La Candelaria	0-12	1 (8.30)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (8.30)	11 (91.7)	12
	13-45	4 (8.00)	7 (14.0)	2 (4.00)	13 (26.0)	37 (74.0)	50
	46-65	2 (11.8)	2 (11.8)	0 (0.00)	4 (23.5)	13 (76.5)	17
	>65	1 (9.10)	2 (18.2)	1 (9.10)	4 (36.4)	7 (63.6)	11
	Total	8 (8.90)	11 (12.2)	3 (3.30)	22 (24.4)	68 (75.6)	90

Fuente: Datos Experimentales

En las tablas 4 y 5 se reportan los porcentajes de seropositividad en Monterrico y La Candelaria, respectivamente, agrupados en base al uso de barreras protectoras utilizadas contra el vector que transmite el virus del Dengue.

En ambas aldeas el pabellón y el uso de insecticidas son las dos barreras más utilizadas. Estas tablas también demuestran que a pesar del uso de distintas barreras protectoras hay un alto porcentaje de seropositividad dentro de estos grupos de personas que si utilizan las barreras de protección. También se hace evidente que en algunos casos no se utiliza ninguna barrera protectora. Por último, en ambas aldeas se demostró que la fumigación es una barrera que casi no se utiliza, solo 2 personas de 196 muestreados. Por lo que se asume que no existe un control de transmisión vectorial por parte de las autoridades competentes.

Tabla 4. Presencia de anticuerpos contra dengue según barrera protectora en Monterrico.

Barrera Protectora	Tipo de anticuerpo n(%)			Seropositividad n(%)		Totales
	IgG	IgM	IgG/IgM	Positivos	Negativo	
Cedazo	1 (10.0)	3 (30.0)	1 (10.0)	5 (50.00)	5 (50.00)	10
Pabellón	5 (6.30)	12(15.0)	1 (1.20)	18 (22.5)	62 (77.5)	80
Fumigación	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0
Insecticidas	1 (25.0)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (25.00)	3 (75.00)	4
Ninguno	0 (0.00)	1 (20.0)	0 (0.00)	1 (20.00)	4 (80.00)	5
Más de una barrera	1 (14.3)	2 (28.6)	0 (0.00)	3 (42.90)	4 (57.10)	7
Total	8 (7.6)	18 (17.0)	2 (1.90)	28 (26.5)	78 (73.5)	106

Fuente: Datos experimentales

Tabla 5. Presencia de anticuerpos contra dengue según barrera protectora en La Candelaria.

Barrera Protectora	Tipo de anticuerpo n(%)			Seropositividad n(%)		Totales
	IgG	IgM	IgG/IgM	Positivos	Negativo	
Cedazo	1 (12.5)	0 (0.00)	0 (0.0)	1 (12.5)	7 (87.50)	8
Pabellón	3 (8.80)	2 (5.90)	1 (2.9)	6 (17.6)	28 (82.4)	34
Fumigación	1 (50.0)	0 (0.00)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.00)	2
Insecticidas	2 (6.30)	5 (15.60)	2 (6.3)	9 (28.1)	23 (71.9)	32
Ninguno	0 (0.00)	4 (33.3)	0 (0.0)	4 (33.3)	8 (66.70)	12
Más de una barrera	1 (50.0)	0 (0.00)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.00)	2
Total	8 (8.90)	11 (12.2)	3 (3.3)	22 (24.4)	68 (75.6)	90

Fuente: Datos experimentales

Con el fin de evaluar el estado socioeconómico de las familias y su relación con la seropositividad encontrada, se construyeron grupos de familias con base a los casos de seropositividad y sus ingresos mensuales como núcleo familiar.

En la tabla 6 se presentan los ingresos mensuales de las familias muestreadas en ambas aldeas. Los datos dejan ver que en ambas aldeas la prevalencia de anticuerpos contra el virus del dengue es mayor en las familias de menor ingreso mensual. También se estratificó un grupo de familias con ingresos mayores a 5,000 quetzales, sin embargo, ninguna familia excede los cinco mil quetzales de ingreso mensual.

Tabla 6. Presencia de anticuerpos contra Dengue según el ingreso mensual en Monterrico y La Candelaria.

	Ingreso mensual(Q)	Tipo de anticuerpo n(%)			Seropositividad n(%)		
		IgG	IgM	IgG/IgM	Positivos	Negativo	Totales
Monterrico	< 1,000	4 (8.70)	5 (10.90)	0 (0.00)	9 (19.60)	37 (80.4)	46
	1,000-2,000	2 (8.00)	7 (28.00)	1 (4.00)	10 (40.0)	15 (60.0)	25
	2,000-3,000	2 (7.40)	6 (22.20)	1 (3.70)	9 (33.30)	18 (66.7)	27
	3,000-5,000	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	8 (100.0)	8
	Total	8 (7.50)	18 (17.0)	2 (1.90)	28 (26.4)	78 (73.6)	106
La Candelaria	< 1,000	2 (15.4)	3 (23.1)	0 (0.00)	5 (38.5)	8 (61.5)	13
	1,000-2,000	2 (3.40)	6 (10.3)	3 (5.20)	11 (18.9)	47 (81.1)	58
	2,000-3,000	4 (30.8)	0 (0.00)	0 (0.00)	4 (30.8)	9 (69.2)	13
	3,000-5,000	0 (0.00)	2 (33.3)	0 (0.00)	2 (33.3)	4 (66.7)	6
	Total	8 (8.90)	11 (12.2)	3 (3.30)	22 (24.4)	68 (75.6)	90

Fuente: Datos Experimentales

Por último, en la tabla 7 se presentan los índices Kappa calculados en base a la seropositividad de ambas aldeas. Ambos índices Kappa se calcularon utilizando Epidat 4.1 mediante una concordancia entre dos observadores comparando las pruebas rápidas de inmunocromatografía realizadas en la Universidad de San Carlos de Guatemala con los ELISA realizados en la Universidad de Mahidol en Tailandia (Anexo 5).

Tabla 7. Índice Kappa de las aldeas Monterrico y La Candelaria.

	Índice Kappa	IC 95%
Monterrico	0.5283	0.3858 – 0.6708
La Candelaria	0.7568	0.6105 – 0.9030

Fuente: Datos Experimentales.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En los últimos años la población mundial ha presentado un aumento del número de casos de dengue, lo que ha sido el resultado de la difícil situación socioeconómica en que habitan gran parte de la población; viviendas inadecuadas, sin agua potable y con deficiente sistema de alcantarillado, situación que ha favorecido la convivencia del mosquito con el ser humano (Larru, 2006).

Entre los determinantes principales ligados al incremento de dengue figuran el crecimiento poblacional, la urbanización desmedida o mal planificada, las condiciones sanitarias inadecuadas, el deterioro de la infraestructura de salud y el surgimiento de características más complejas en el vector transmisor del virus (Torres, 2007).

Todas estas características mencionadas, se presentan en ambas poblaciones estudiadas, la población ha crecido y los recursos han sido insuficientes para la misma, lo que ha llevado a disminuir el nivel de salud y específicamente hablando del virus del dengue, las poblaciones han sido susceptibles a la propagación del virus.

El cambio climático por sí solo es un factor determinante, en ésta y otras enfermedades vectoriales; la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que el aumento de la temperatura en 1-2°C, puede aumentar en varios cientos de millones los casos de dengue, ocasionando 20 a 30,000 muertes más por año. Este es otro factor que predispone a los habitantes de ambas aldeas a adquirir y transmitir el virus del dengue. Ya se ha puesto en evidencia en muchos países y específicamente en Honduras la influencia del cambio climático en relación a la incidencia de esta enfermedad (Ávila, 2010).

Este cambio climático afecta mayormente las áreas costeras del país, como lo son Monterrico y La Candelaria, volviendo ambas poblaciones susceptibles a la propagación del virus.

Las Aldeas, Monterrico y La Candelaria, no tienen estudios recientes sobre la prevalencia de anticuerpos de dengue por lo que estos resultados son de suma importancia para la región y para el país. La prevalencia encontrada en ambas aldeas (Tabla No. 1, sección de resultados), fue de 25.5% (50 casos seropositivos de los 196 estudiados), tal prevalencia incluye una seropositividad para ambas inmunoglobulinas de tipo IgG e IgM. Se determinó que no hay diferencia significativa de prevalencia de dengue por aldea ya que Monterrico reportó un 26.4% y la Aldea La Candelaria con

un 24.4%. Estos porcentajes encontrados son similares a los reportados por el Laboratorio Nacional de Salud (LNS) y se encuentran cercanos a los datos reportados en otras regiones. Al analizar los porcentajes obtenidos, aproximadamente uno de cada cuatro habitantes en ambas aldeas ha tenido contacto con el virus del dengue, lo cual es una relación elevada y se puede decir que por lo menos un miembro de cada familia ha tenido dengue y ninguna casa está completamente libre del contacto con el virus.

También es importante mencionar que la seropositividad permanece alta, lo cual demuestra si no la falta de medidas de control por parte del sistema de salud, la poca eficacia de dichas medidas de control para erradicar el vector.

Para determinar la infección primaria se tomó en cuenta la presencia únicamente de la inmunoglobulina M (IgM) mientras que para determinar una infección secundaria se tomaron en cuenta ambas inmunoglobulinas (IgG/IgM). La presencia únicamente de IgG se tomó como una infección pasada.

Los casos de infección primaria presentaron una prevalencia de 14.8% (IC 95%: 9.83-19.77) (IgM), revelando un predominio sobre casos de infección pasada (casos de IgG) representados con un 8.20% (IC 95%: 4.33-12.00). Los casos reportados con seropositividad para anticuerpos IgG e IgM (infección secundaria) fueron pocos evidenciando un 2.60% (IC 95%: 0.34-4.76) de la población. Deduciendo que la población en los lugares de estudio sí ha tenido contacto con el virus del dengue, previa y actualmente; la variación de serotipos del virus del dengue puede decirse que es mínima en la región ya que fueron raros los casos con reinfección, disminuyendo el riesgo de desarrollar casos con dengue hemorrágico o de síndrome de dengue hemorrágico.

Las variables tomadas para la evaluación epidemiológica fueron género, edad, la utilización de barreras protectoras contra el vector y por último el ingreso mensual por vivienda. Estas variables fueron determinadas como principales factores de riesgo asociados a la infección por el virus del dengue. Cada factor de riesgo se describe en las tablas 2 a la 6 y fue analizado individualmente.

Al evaluar la prevalencia de anticuerpos según el género (ver tabla 2, sección de resultados). El género femenino reportó mayor seropositividad en ambas aldeas, un 29.2% en Monterrico y un 32.7% en La Candelaria. Se pudo evidenciar que las personas afectadas o que han tenido mayor contacto con el virus del dengue son las mujeres. Este alto porcentaje es consecuencia de la mayor

permanencia en el hogar (lugar donde se encuentran los criaderos del mosquito), mientras que los hombres, por sus diversas ocupaciones, permanecen menos tiempo en casa.

Un estudio realizado en México por Torres López, evidenció que las mujeres están más expuestas a ser picadas por el mosquito transmisor del dengue, ya que ellas son las encargadas del aseo de la casa de habitación, del lavado de ropa y mantenimiento de los alrededores de las viviendas (Torres, 2012).

Este patrón de exposición se repite en las aldeas estudiadas ya que como se mencionó anteriormente, mientras los hombres salen a trabajar, las mujeres amas de casa en su mayoría permanecen más tiempo en la casa, lugares donde se encuentran los criaderos del mosquito transmisor.

Lo mencionado anteriormente también revela el incremento del riesgo para los pequeños de la familia, para los que aún permanecen en cama y dependen de su madre, por eso es importante informar a todos los miembros de la familia, madres y padres principalmente, sobre cómo prevenir el desarrollo de vectores y los cuidados en menores.

Al analizar los resultados de seropositividad según la edad (tabla 3), no se reveló ningún dato importante sobre la afinidad del mosquito hacia cierto grupo etario, sin embargo, el grupo más afectado en la aldea Monterrico fue el de 13 a 45 años con un 31.6%, mientras que en la aldea La Candelaria fue el grupo mayor de 65 años con un 36.4%. La población menos afectada fue la de 0 a 12 años ya que con ellos se manejan cuidados especiales por parte de los encargados y se utilizan con mayor frecuencia barreras protectoras contra el vector. En Monterrico, el grupo etario más afectado corresponde a la población económicamente activa, lo que demuestra que en determinada época, la economía de la comunidad se ve afectada al momento de presentar la enfermedad. Caso contrario en La Candelaria, donde la población más afectada es la de la tercera edad, aunque en menor escala también se ve afectada la economía comunitaria.

Las barreras contra vectores son cualquier artículo o material, el cuál previene o limita el contacto del vector con el humano con el fin de disminuir el riesgo. La población reportó que la mayoría utiliza mucho el pabellón como barrera protectora, seguidos por cedazo, insecticidas y muy pocos que acuden a la fumigación (ver tablas no 4 y no 5). Aquí al ver los resultados se evidencia que ninguna de las barreras empleadas disminuye el riesgo o el contacto con el vector, ya que el pabellón que es

el más utilizado por la población de Monterrico reportó la mayoría de casos positivos, 18 casos positivos equivalentes a un 22.5%.

En La Candelaria la mayor prevalencia de casos positivos correspondió al uso de insecticidas con un 28.1% seguido por 17.6% para el uso de pabellón.

Ambas aldeas evidenciaron que han tenido contacto previo con el virus del dengue u otra enfermedad relacionada con vectores (mosquitos, como la malaria), ya que sí utilizan barreras protectoras contra éstos, pero la poca eficacia es evidente.

La utilización de barreras protectoras produce una desventaja en la población que es una excesiva confianza por ejemplo con la fumigación como medida preventiva, situación que además de afectar el medio ambiente no ha sido recomendada por la OMS por considerar que se deben anteponer acciones de atención integral al problema del dengue (Avila, 2008).

Esta dimensión podría favorecer una actitud pasiva de la población, al generar una percepción de falsa seguridad (Montoya, 20013).

Por lo mismo y la falta de información, la población no toma acciones de prevención adecuadas.

Por último, se analizó la prevalencia de los anticuerpos del virus del dengue versus el ingreso mensual (ver tabla no 6), la mayoría de familias tienen un ingreso mensual entre mil y tres mil quetzales. El mayor porcentaje de seropositividad en Monterrico y La Candelaria fue en los rangos de mil a dos mil quetzales y menor a mil quetzales respectivamente. Es importante mencionar que la mayoría de familias con este ingreso mensual, son familias numerosas, lo que hace que el ingreso per cápita se reduzca, disminuyendo las posibilidades de cubrir necesidades básicas en salud y en educación. Por lo que no se tiene acceso a barreras de protección efectivas ni acceso a la información necesaria para combatir la propagación vectorial.

La existencia de información confusa por falta de conocimiento: la asociación de la enfermedad de dengue a la de la gripe; la identificación del mosquito como vector de la enfermedad, pero sin claridad para diferenciar qué tipo de mosquito es el transmisor; la creencia de que tanto el agua limpia como la sucia sirve como reservorio del mosquito, son factores que influyen en el riesgo de tener contacto con el virus del dengue en la población analizada (Gomez, 2009).

En la tabla 7 se reportan los índices Kappa de ambas aldeas. Para ello, se utilizó como estándar los resultados obtenidos mediante ELISA (Anexo 4) y se comparó con las pruebas rápidas realizadas. Para Monterrico se obtuvo un índice de 0.5283 (IC 95%: 0.3858-0.6708) mientras que para La Candelaria se obtuvo un índice de 0.7568 (IC 95%: 0.6105-0.9030). Ambos índices son índices bajos y no reflejan una buena concordancia, lo cual indica que las pruebas rápidas utilizadas para el diagnóstico no son de gran utilidad ya que reportan muchos resultados falsos negativos, por lo que no se logra captar un buen porcentaje de casos positivos en relación a un ELISA. Debido a esto, no se recomienda su uso en el diagnóstico de la enfermedad, ya que posee baja sensibilidad aproximadamente de un 70 a 80%.

X. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de anticuerpos IgG e IgM contra dengue en la población de las aldeas de Monterrico y La Candelaria fue de un 25.5% (50 casos seropositivos de los 196 estudiados).
2. La prevalencia de infección aguda en las Aldeas de Monterrico y La Candelaria fue de un 14.8% (29 casos positivos para IgM de los 196 estudiados).
3. La prevalencia de una reinfección o infección secundaria en la población de las aldeas de Monterrico y La Candelaria fue baja con un 2.6% (solo 5 casos de los 196 estudiados). El riesgo de desarrollar casos con dengue hemorrágico o de síndrome de dengue hemorrágico es bajo.
4. La prevalencia de anticuerpo IgG en la población de las aldeas Monterrico y La Candelaria fue de un 8.20% (16 casos de los 196 estudiados).
5. El sexo femenino corre más riesgo de infectarse por el virus del dengue, al tener una vida sedentaria, permaneciendo por largos períodos de tiempo en su hogar, exponiéndose a tener mayor contacto con el vector.
6. Los resultados de pruebas rápidas tienen una concordancia media con los ELISA por lo que no son útiles en el diagnóstico de la enfermedad.

XI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a las autoridades de salud y a los COCODES de las Aldeas Monterrico y La Candelaria realizar jornadas de capacitación y de información sobre lo que es el virus del dengue, como identificar la enfermedad y cómo prevenir el contagio disminuyendo el contacto y desarrollo del vector.
2. El uso de barreras contra los vectores usado por la población en estudio, es de poca aplicación, por lo que es necesario que las autoridades brinden orientación adecuada sobre el uso y aplicación de barreras protectoras para la disminución del desarrollo del vector y para minimizar el contacto de la población con el mismo.
3. Utilizar una prueba adecuada de alta sensibilidad para poder detectar todos los posibles casos positivos para luego confirmar el diagnóstico con otra prueba que elimine los falsos positivos.

XII. REFERENCIAS

- Acosta, C. y Gómez, I. (2005). Biología y métodos diagnósticos del dengue. *Revista Biomédica* 16(2), 113-137.
- Arbo, A., Basualdo, W., Bogado, N., Iramain, R., Lovera, D. y Pavlicih, V. (2011). Manejo de casos de Dengue durante Epidemias. *Revista Pediatría Asunción* 38(1), 57-62.
- Arenas, A. y Carvajal, L. (2012). Influencia de los cambios climáticos en la definición del sexo en el *Aedes aegypti* y su impacto en las epidemias de dengue. *Revista Facultad de Salud* 4(2), 11-24.
- Avila, G., Araujo, R. & Orellana, G. (2010). Epidemiological situation of dengue in Honduras during the 1991-2010 period. *Revista Médica de Honduras* 78(3), 156–162.
- Avila, ML. (2008). Dengue. *Revista Médica Costarricense* 50(1), 128–130.
- Azeredo, E., De Oliveira-Pinto, L., Zagne, S., Cerqueira, D., Nogueira, R. & Kubelka, C. (2006). NK cells, displaying early activation, cytotoxicity and adhesion molecules, are associated with mild dengue disease. *Clinical & Experimental Immunology* 143(2), 345-356.
- Blandón, E. (2006). *Historia del Dengue en Guatemala* Maestría en Docencia Universitaria. Departamento de Postgrado. Facultad de Humanidades. Guatemala: Universidad de San Carlos.
- Catteau, A., Kalinina, O., Wagner, M., Deubel, V., Courageot, M. & Despres, P. (2003). Dengue virus M protein contains a proapoptotic sequence referred to as ApoptoM. *Journal of General Virology* 84(10), 2781-2793.
- Charnsilpa, W., Takhampunya, R., Endy, T., Mammen, M., Libraty, D. & Ubol, S. (2005). Nitric oxide radical suppresses replication of wild-type dengue 2 viruses in vitro. *Journal of Medical Virology* 77(1), 89-95.
- Chase, A., Medina, F. & Munoz-Jordan, J. (2011). Impairment of CD4+ T cell polarization by dengue virus-infected dendritic cells. *The Journal of Infectious Diseases* 203(12), 1763-1774.

- Díaz, S. (2009). Reporte epidemiológico Vigilancia laboratorial de Dengue, Laboratorio Nacional de Salud Guatemala 2009. Recuperado de: http://epidemiologia.mspas.gob.gt/vigepi/2010/laboratorio/Vigilancia%20Dengue_2_.pdf
- Durán, C., Lanza, T. y Plata, J. (2010). Fisiopatología y Diagnóstico del Dengue. *Revista Médica Honduras* 78(3), 138-143.
- Estébanez, P. (2005). *Medicina Humanitaria*. España: Ediciones Díaz de Santos.
- Goldsby, R., Kindt, T., Osborne, B. & Kuby, J. (2007). *Immunology*. (6a Ed.). Nueva York: WH Freeman and Co.
- Gomez-Dantes, H. & Willoquet, J. (2009). Dengue in the Americas: challenges for prevention and control. *Cad Saude Publica* 25(1), 19-31.
- Gómez, O. (2007). *Educación para la salud*. San José, Costa Rica: EUNED.
- Guzman, M., Garcia, G. & Kouri, G. (2006). Dengue and dengue hemorrhagic fever: research priorities. *Revista Panamericana de Salud Pública* 19(3), 204-215.
- Hoyos, A. y Rodríguez, A. (2010). Actualización en aspectos epidemiológicos y clínicos del dengue. *Revista Cubana de Salud Pública* 36(1), 149-164.
- Ho, L., Hung, L., Weng, C., Wu, W., Chou, P., Lin, Y., Chang, D., Tai, T. & Lai, J. (2005). Dengue virus type 2 antagonizes IFN- α but not IFN- γ antiviral effect via down-regulating Tyk2-STAT signaling in the human dendritic cell. *The Journal of Immunology* 174(12), 8163-8172.
- Larru-Martinez, B., Quiroz, E., Bellon, J., Esquivel, R., Nieto-Guevara, J. y Saez-Llorens, X. (2006). Dengue pediátrico en Panamá. *Anales de Pediatría* 64(6), 517-522.
- Martínez, E. (2006). La prevención de la mortalidad por Dengue: un espacio y un reto para la atención primaria de salud. *Revista Panamericana de Salud Pública* 20(1), 67-68.
- Martínez, R., Díaz, A., Coronel, C., Gómez, S. y Villar, L. (2009). Evaluación de la utilidad de la prueba rápida de casete por inmunocromatografía para el diagnóstico de dengue en una región endémica colombiana. *Revista Biomédica* 29(4), 616-624.

- Martínez, R., Díaz, F. y Villar, L. (2005). Evaluación de la definición clínica de dengue sugerida por la OMS. *Revista Biomédica* 25(3) 412-416.
- McBride, W. & Bielefeldt, H. (2000). Dengue viral infections; pathogenesis and epidemiology. *Microbes & Infection* 2(9), 1041-1050.
- Montoya, R. (2013). Situación Regional y Nacional del dengue: Organización Panamericana de la Salud. Recuperado de:
URL:http://www.colegiomedico.hn/doc/descargas/Presentaciones/PDF/Situacion_de_dengue_28_junio_2013.pdf.
- Morrison, J., Aguirre, S. & Fernández, A. (2012). Innate immunity evasion by dengue virus. *Viruses* 4(3), 397-413.
- Muñoz-Jordán, J., Laurent-Rolle, M., Ashour, J., Martínez-Sobrido, L., Ashok, M., Lipkin, W. & García-Sastre, A. (2005). Inhibition of alpha/beta interferon signaling by the NS4B protein of flaviviruses. *Journal of Virology* 79(13), 8004-8013.
- Myint, K., Endy, T., Mongkolsirichaikul, D., Manomuth, C., Kalayanaroj, S., Vaughn, D., Nisalak, A., Green, S., Rothman, A., Ennis, F. & Libraty, D. (2006). Cellular immune activation in children with acute dengue virus infections is modulated by apoptosis. *The Journal of Infectious Diseases* 194(5), 600-607.
- Navarrete, J., Vásquez, J., Vásquez, J. y Gómez, H. (2002). Epidemiología del Dengue y Dengue Hemorrágico en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) *Revista Peruana de Epidemiología* 10(1), 3-8.
- OMS, TDR (2009). Informe: *Dengue: guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control*. La Paz, Bolivia: Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud.
- OPS. (2003). Boletín: *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: clamidiosis, rickettsiosis y virosis*. (3ª Ed.). Washington, DC: OPS
- Organización Panamericana de la Salud. Secretaria de Salud. Sub-secretaria de Riesgos Poblacionales. Dirección General de Vigilancia de Salud Unidad de Control de Vectores (2008) "Programa de Prevención y Control del Dengue. Lineamientos de Vigilancia y Manejo

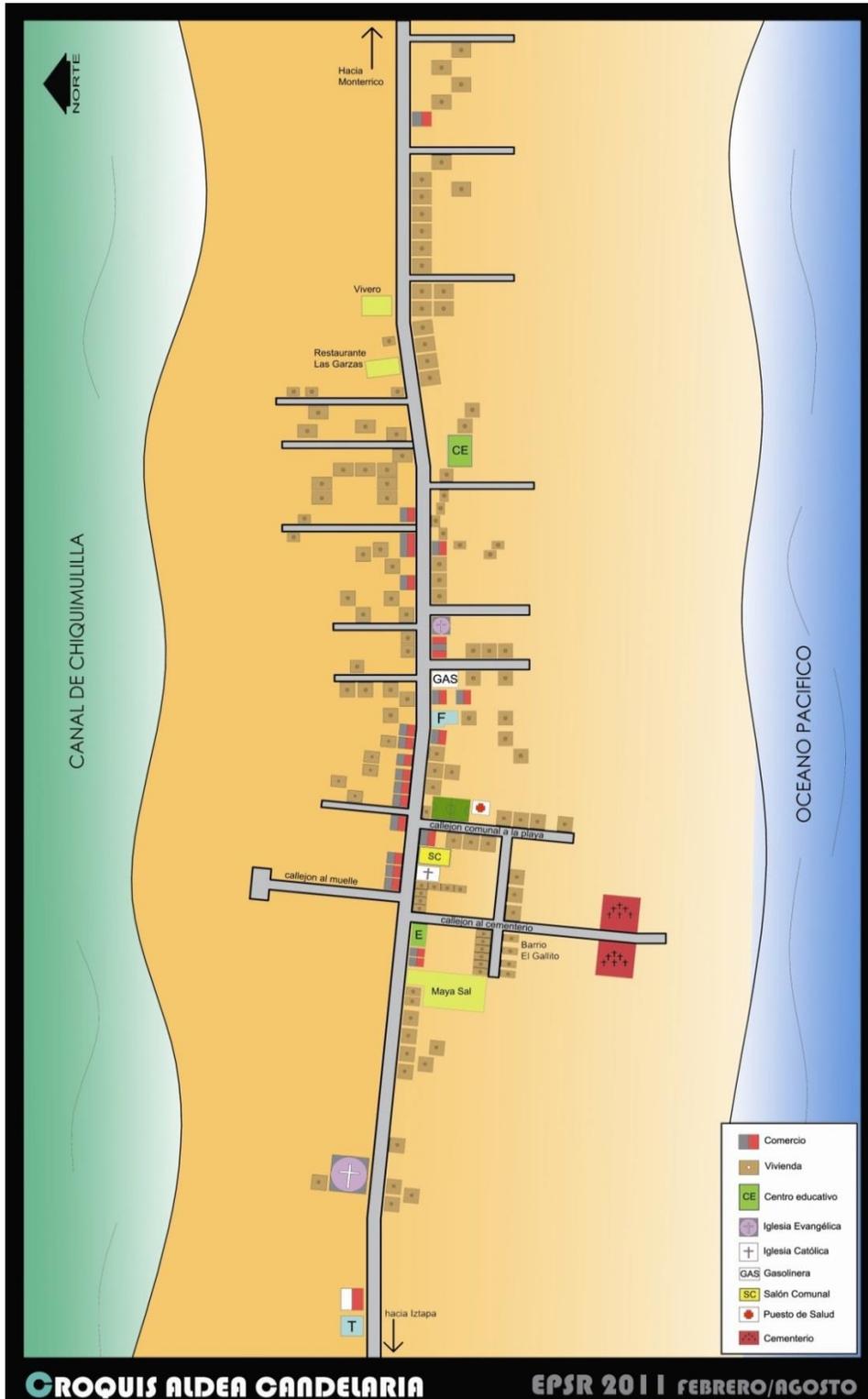
Estandarizado de Pacientes con Dengue 2008"; 3. Recuperado de:
URL:http://www.bvs.hn/Honduras/Dengue/LineamientosVigilanciaManejo_Dengue_2008.pdf.

- Perry, S., Buck, M., Lada, S., Schindler, C. & Shresta, S. (2011). STAT2 Mediates innate immunity to dengue virus in the absence of STAT1 via the type I interferon receptor. *PLoS Pathogens* 7(2), 134-142.
- Rocha, R., Lozano, P. y Martínez, Y. (2005). *Modelos de la Patogénesis de las Enfermedades Infecciosas*. Puebla, México: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Rodriguez-Madoz, J., Belicha-Villanueva, A., Bernal-Rubio, D., Ashour, J., Ayllon, J. & Fernandez-Sesma A. (2010). Inhibition of the type I interferon response in human dendritic cells by dengue virus infection requires a catalytically active NS2B3 complex. *Journal of Virology* 84(19), 9760-9774.
- Romero, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias*. (3ª Ed.). México: Editorial Médica Panamericana.
- Schneemann, A. (2006). The structural and functional role of RNA in icosahedral virus assembly. *Annual Review of Microbiology* 60(1), 51-67.
- Torres, J. & Castro J. (2007). The health and economic impact of dengue in Latin America". *Cad Saude Publica* 23(1), 23–31.
- Torres, T., Guerrero, J. y Salazar, J. (2012). Dimensiones culturales del dengue que favorecen o dificultan su prevención en México. *Revista Panamericana Salud Pública* 31(3), 197–203.
- Urbanowski, M., Ilkow, C. & Hobman, T. (2008). Modulation of signaling pathways by RNA virus capsid proteins. *Cellular Signalling* 20(7), 227-236.
- Valdez, J., Ruiz, D., Vásquez, S., Gutiérrez, N. y Guzmán, M. (2012). Evaluación del sistema diagnóstico SD Dengue Duo para la detección de la proteína NS1 y los anticuerpos IgM e IgG anti-dengue". *Revista Cubana de Medicina Tropical* 64(1), 27-34.
- Velandia, M. y Castellanos, J. (2011). Virus del Dengue: estructura y ciclo viral. *Revista Colombiana de Infectología* 15(1), 33-43

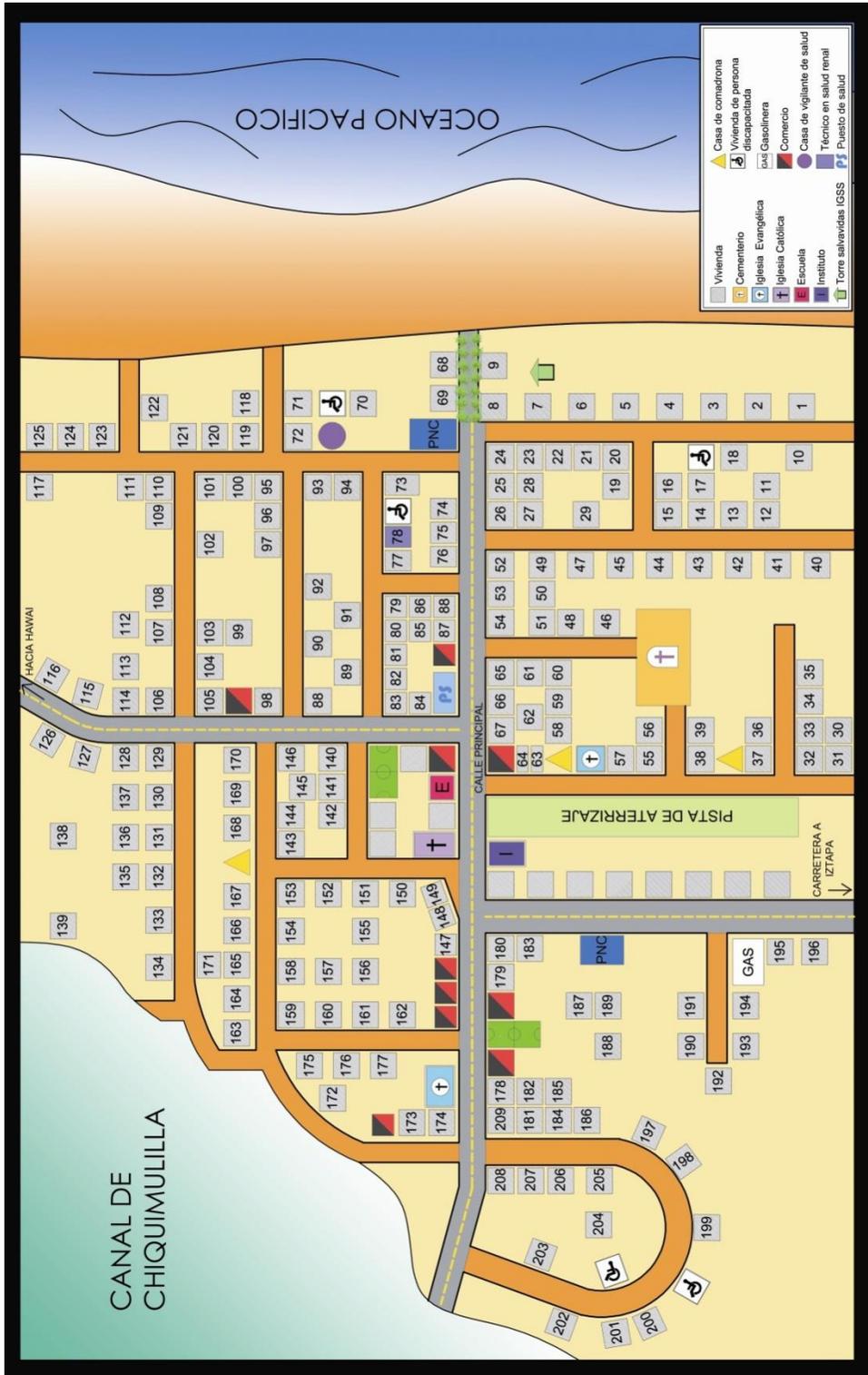
- Vélez, H., Rojas, W., Borrero, J. y Restrepo, J. (2003). *Fundamentos de Medicina: Enfermedades Infecciosas*. (6ª Ed.). Bogotá, Colombia: QuebecorWorgd, Bogotá S.A.
- Vignoli, R. (2006) Agentes de infecciones emergentes, Hantavirus, dengue, BSE. (pp.576-583). En Instituto de Higiene (2ª. Ed.). *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. Montevideo: Editorial FEFMUR.
- Zhang, Y., Zhang, W., Ogata, S., Clements, D., Strauss, J. & Baker T. (2004). Conformational changes of the flavivirus E glycoprotein. *Structure* 12(9), 1607-1618.
- Zuñiga, M. (2011) "Informe Final de Ejercicio Profesional Supervisado Rural –EPSR- Realizado en: Monterrico y Candelaria, Taxisco, Santa Rosa. Facultad de Medicina Universidad de San Carlos de Guatemala.

XIII. ANEXOS

Anexo 1: Croquis de las aldeas Monterrico y La Candelaria, Taxisco.



Fuente: (Zuñiga, 2011)



CROQUIS ALDEA MONTERRICO

MADAI ZUÑIGA VILLEGAS

EPSR MONTERRICO 2011

FEBRERO / JULIO

Fuente: (Zuñiga, 2011)

Anexo 2: Consentimiento informado utilizado en la recolección de datos y muestras dentro del estudio “indicadores de salud de las aldeas Monterrico y La Candelaria”

Consentimiento Informado

Por este medio se le informa que ha sido seleccionado para participar en el estudio “prevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti-dengue en habitantes de La Candelaria, Taxisco, departamento de Santa Rosa”, cuyos objetivos principales son:

1. Determinar la prevalencia del virus del dengue en la aldea.
2. Evaluar los posibles factores de riesgo existentes en la aldea.
3. Informar a los pobladores de la aldea el estado de salud y cómo prevenir el dengue.

Le hacemos saber además que su participación en este estudio será ofrecida voluntariamente sin que medie coerción o fuerza. Darle a conocer que tiene el derecho de dar por finalizada la entrevista en el momento que desee así como proporcionar sus dudas en cualquier momento.

De aceptar usted, deberá contestar un cuestionario sobre su salud y permitir la toma de muestras de sangre venosa mediante sistema vacutainer. Es preciso que usted esté enterado sobre los beneficios que este estudio le traerá, los cuales se representan nuestros objetivos. Este estudio no le provocará ningún efecto secundario, teniendo en cuenta la posible presencia de un moretón en el área de toma de muestra.

Las entidades responsables del estudio tomarán las medidas necesarias para asegurar la confidencialidad de toda la información que usted provea, garantizándole que no se revelara su identidad. Si usted tuviera alguna duda o pregunta adicional sobre este estudio, puede llamar a Diego Rivera 59797670. Los resultados de los exámenes realizados se estarán proporcionando en un tiempo prudencial luego de la toma de muestra. Si en dado caso usted presenta algún tipo de enfermedad se le proporcionará la instrucción acerca del medicamento adecuado y en medida de lo posible facilitarle el tratamiento.

Firma de aceptación
Numero de DPI

Usted también autoriza que los integrantes que viven en su casa participen en dicho estudio.

Nombre	Edad
1. _____	_____
2. _____	_____
3. _____	_____
4. _____	_____
5. _____	_____
6. _____	_____
7. _____	_____
8. _____	_____
9. _____	_____
10. _____	_____

Consentimiento Informado

Por este medio se le informa que ha sido seleccionado para participar en el estudio “prevalencia de anticuerpos IgG e IgM anti-dengue en habitantes de La Candelaria, Taxisco, departamento de Santa Rosa”, cuyos objetivos principales son:

1. Determinar la prevalencia del virus del dengue en la aldea.
2. Evaluar los posibles factores de riesgo existentes en la aldea.
3. Informar a los pobladores de la aldea el estado de salud y cómo prevenir el dengue.

Le hacemos saber además que su participación en este estudio será ofrecida voluntariamente sin que medie coerción o fuerza. Darle a conocer que tiene el derecho de dar por finalizada la entrevista en el momento que desee así como proporcionar sus dudas en cualquier momento.

De aceptar usted, deberá contestar un cuestionario sobre su salud y permitir la toma de muestras de sangre venosa mediante sistema vacutainer. Es preciso que usted esté enterado sobre los beneficios que este estudio le traerá, los cuales se representan nuestros objetivos. Este estudio no le provocará ningún efecto secundario, teniendo en cuenta la posible presencia de un moretón en el área de toma de muestra.

Las entidades responsables del estudio tomarán las medidas necesarias para asegurar la confidencialidad de toda la información que usted provea, garantizándole que no se revelara su identidad. Si usted tuviera alguna duda o pregunta adicional sobre este estudio, puede llamar a Eliseo Albanés 50188472. Los resultados de los exámenes realizados se estarán proporcionando en un tiempo prudencial luego de la toma de muestra. Si en dado caso usted presenta algún tipo de enfermedad se le proporcionará la instrucción acerca del medicamento adecuado y en medida de lo posible facilitarle el tratamiento.

Firma de aceptación
Numero de DPI

Usted también autoriza que los integrantes que viven en su casa participen en dicho estudio.

Nombre	Edad
1. _____	_____
2. _____	_____
3. _____	_____
4. _____	_____
5. _____	_____
6. _____	_____
7. _____	_____
8. _____	_____
9. _____	_____
10. _____	_____

Anexo 3: Inserto de Prueba Rápida Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM Rapid

Dengue

Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM
(Sangre Total/Suero/Plasma)
Fecha Técnica

REF IDE-402 Español

Un examen rápido para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG e IgM) en la sangre del Dengue en Sangre Total, Suero o Plasma.
Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

ISO INDICADO

El Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM (Sangre Total/Suero/Plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos de IgG e IgM del virus del Dengue en sangre total, suero o plasma humano. Como ayuda en el diagnóstico de infecciones primarias y secundarias de Dengue.

SUMARIO

El Dengue es un "hantavirus", transmitido por los mosquitos *Aedes albopictus* y *Aedes aegypti*. Se transmite al individuo por la picadura de un mosquito infectado. Los síntomas clínicos incluyen fiebre, dolor articular y muscular, náuseas, vómitos, erupción cutánea, hinchazón de las glándulas linfáticas, dolor de cabeza, dolor de espalda y dolor de los músculos. La infección primaria de Dengue provoca el incremento de anticuerpos IgM a un nivel detectable entre 3 y 5 días después del comienzo de la fiebre. Los anticuerpos IgM generalmente persisten entre 30 y 90 días. La mayoría de pacientes de las regiones endémicas tienen un diagnóstico confirmado en altos niveles de anticuerpos de IgG previos (tanto primarios como secundarios) por tanto, la asociación de anticuerpos de anti-Dengue IgM e IgG pueden también ayudar a distinguir entre infecciones primarias y secundarias.

El Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM (Sangre Total/Suero/Plasma) es un examen rápido que utiliza una combinación de partículas coloreadas cubiertas del antígeno del Dengue para la detección de anticuerpos de Dengue IgG e IgM en Sangre Total, Suero o Plasma Humano.

PRINCIPIO

El Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM (Sangre Total/Suero/Plasma) es un inmunoensayo de base sólida que utiliza partículas coloreadas cubiertas del antígeno del Dengue para la detección de anticuerpos de Dengue IgG e IgM en Sangre Total, Suero o Plasma Humano. La prueba consiste de dos componentes, un componente IgG y un componente IgM. En el componente IgG la zona de la región 1 del examen se cubre por IgG anti-humano. Durante el examen, la muestra migrará hacia arriba con las partículas cubiertas por el antígeno en las tiras de examen. La muestra migrará hacia arriba de la membrana cromatográfica por acción capilar y reaccionará con el IgG anti-humano en la región 1 del examen. IgG anti-humano reaccionará con el antígeno del Dengue en la región 1 del examen de la región 1. En el componente IgM, se cubre la zona de la región 2 del examen con anti-IgM. Durante el examen las muestras reaccionan con el "IgM" anti-humano y las partículas cubiertas de Dengue en las tiras de examen, y este complejo es capturado por el anti-IgM, formando una línea de color en la zona de la región 2 por lo tanto la muestra contiene anticuerpos IgM de Dengue, una línea de color aparecerá en la zona de la región 2. Si la muestra no contiene anticuerpos de Dengue, ninguna línea de color aparecerá en las regiones, indicando un resultado negativo. Como un control de procedimiento, una línea de color siempre cambiará de rojo a azul en la región de control, indicando que una volumen apropiado de muestra se ha añadido y que la reacción de la membrana se ha producido.

REATIVOS

La placa del examen contiene partículas cubiertas de Dengue y "IgM" anti-humano. El IgG anti-humano y anti-IgM se encuentran en el componente de la prueba.

PRECAUCIONES

- Para Diagnóstico profesional in vitro solamente. No usar la prueba después de la fecha de expiración.
- La caja debe estar almacenada en un sitio fresco, fuera del alcance de los niños.
- No coma, beba o fume en el área donde el espécimen o los kits son manipulados.
- Maneje los especímenes como si estuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones estándar contra cualquier dolo microbiológico durante la prueba y siga los procedimientos de bioseguridad apropiados.
- Use vestimenta protectora como mandiles de laboratorio, guantes descartables, protección para los ojos mientras los especímenes son examinados.
- La prueba, una vez utilizada, debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y temperatura pueden afectar los resultados adversamente.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene como viene empacado en el sobre sellado, ya sea a temperatura ambiente o refrigerado (2-8°C). Mantenga el dispositivo o cassette de la prueba en un lugar seco y protegido del agua. No exponga el sobre sellado al dispositivo o cassette de la prueba, debe permanecer en el sobre sellado hasta su uso.

NO CONGELAR. No utilizar la prueba después de la fecha de expiración.

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

El Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM (Sangre Total/Suero/Plasma) puede utilizarse usando sangre total (de venopunción o punción de la palma), suero o plasma.

- Para colección de muestras de **sangre total** para punción de la palma:
 - Lave la mano del paciente con jabón y agua tibia o limpie con un copo de algodón con alcohol. Deje secar el dedo anular o medio.
 - Hacer el sitio de punción frotando hacia adentro con dirección a las puntas del dedo anular o medio.
 - Puncione la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera muestra de sangre.
 - Suavemente masaje la mano desde la muñeca hacia la palma y hacia el dedo recogido de tal forma que se forme una gota redonda de sangre en el sitio que se puncionó.
 - Limpie la muestra de sangre con un algodón humedecido con alcohol.
 - Una muestra limpia de 10 µL. El gobero que se provee con el examen dispensa aproximadamente 10 µL en una gota sin cuando se hubiera aspirado una cantidad mayor de sangre en el gobero.
 - Separe el suero o el plasma de la sangre ha pronto como sea posible para evitar hemólisis. Use solamente muestras claras no-hemolizadas.
 - Después de la recolección. No deje las muestras a temperatura ambiente por largos períodos. Muestras de suero y plasma pueden ser almacenadas de 2-8°C, hasta 3 días. Para almacenamiento más prolongados, las muestras deben ser almacenadas por debajo de -20°C. La sangre total recolectada a través de venopunción debe ser almacenada de 2-8°C si la prueba se va a realizar dentro de los 2 días siguientes a la recolección. No congelar las muestras de sangre total. La Sangre total recolectada por punción de la palma debe ser analizada inmediatamente.

2. El Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM (Sangre Total/Suero/Plasma) solamente indicará la presencia de anticuerpos Dengue en la muestra) y no debe ser utilizado como único criterio para el diagnóstico del Dengue.

3. Al comienzo de la fiebre, las concentraciones de anti-Dengue IgM pueden encontrarse por debajo de un nivel detectable. En la infección primaria, un anticuerpo de captura IgM de un ensayo de Dengue puede exhibir niveles detectables de anti-Dengue IgM al inicio de la infección. Después de haber sido infectados, el 99% de los pacientes examinados alrededor del décimo día. Se recomienda que los pacientes sean examinados durante este período de tiempo. Para la infección secundaria, una reacción molar baja de anti-Dengue IgM y una reacción molar alta de IgG que es un anticuerpo reactivo en una muestra de sangre total se caracterizan por sus cuerpos. La señal IgM puede ser débil o ausente en una muestra de sangre total de un paciente con un anticuerpo IgG de un nivel alto.

4. La reactividad cruzada a través del grupo "Havirvins" (Dengue 1, 2, 3 & 4, Encefalitis de San Louís, Virus del Oeste del Nilo, Encefalitis japonesa y Virus de Fiebre Amarilla) es común.^{6,7} Los resultados positivos deben ser confirmados por otros métodos.

5. La continua presencia o ausencia de anticuerpos no puede usarse para determinar el éxito o el fracaso del tratamiento.

6. Como todos los pacientes de dengue, los resultados deben ser interpretados con cautela. Los resultados de la prueba de diagnóstico de Dengue se caracterizan por la elevación del IgG específico del Dengue. En la mayoría de los casos esto va acompañado por elevados niveles de IgM.

7. El Examen Rápido en Placa (Sangre Total/Suero/Plasma) de Dengue IgG/IgM ha sido comparado con un examen de ELISA, ha sido evaluado en el mercado, demostrando una sensibilidad de 82.4% para un suero primario de IgM y 91.6% para un suero secundario de IgG.

VALORES ESPERADOS

La infección primaria de Dengue se caracteriza por la presencia de anticuerpos de IgM detectable de 3 a 5 días del comienzo de la infección. La infección secundaria de Dengue se caracteriza por la elevación del IgG específico del Dengue. En la mayoría de los casos esto va acompañado por elevados niveles de IgM.

El Examen Rápido en Placa (Sangre Total/Suero/Plasma) de Dengue IgG/IgM ha sido comparado con un examen de ELISA, ha sido evaluado en el mercado, demostrando una sensibilidad de 82.4% para un suero primario de IgM y 91.6% para un suero secundario de IgG.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM (Sangre Total/Suero/Plasma) ha sido evaluado con muestras obtenidas de una población de individuos sintomáticos y asintomáticos. Los resultados fueron confirmados por un examen de ELISA, líder en el Mercado, y automatizados. Los resultados son los siguientes:

Infección de Dengue	Resultado	IgG	IgM
Infección Primaria	Positivo	14	0
	Negativo	3	17
	Total	17	17
Infección Secundaria	Relativa Sensibilidad	82.4%	0%
	Positivo	39	55
	Negativo	16	5
Sin Infección de Dengue	Relativa Sensibilidad	70.0%	>99.0%
	Positivo	0	0
	Negativo	378	378
Total	Relativa Especificidad	>99.8%	>99.9%
	Positivo	378	378
	Negativo	378	378

Para las infecciones primarias y secundarias, la sensibilidad total fue 95.8%, la especificidad total >99.0% y la exactitud total 99.3%.

Interpretación

La presencia de las corrientes-intensas se ha detectado utilizando 10 réplicas de cuatro muestras: una negativa, una IgG positiva, una IgM positiva, y una IgG/IgM positiva dual. Las muestras fueron identificadas correctamente >99% de las veces.

Interesante

La presión entre-corridos ha sido determinado por 10 ensayos independientes en las mismas cuatro muestras: una negativa, una IgG positiva, una IgM positiva, y una IgG/IgM positiva dual. Los resultados fueron los siguientes: 100% de las muestras fueron identificadas correctamente >99% de las veces.

BIBLIOGRAFÍA

- Haldane SB. *Subacute primary health care: strategies for control of disease in the developing world*. VI. *Dengue*. Rev Infect Dis. 1984; 6:231-244.
- Haldane SB. *Pathogenesis of dengue: challenge to molecular biology*. Science 1988; 239:474-481.
- Immunization of dengue: challenge to molecular biology. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1984; 22: 9-12.
- Immunization of dengue: challenge to molecular biology. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1984; 22: 9-12.
- Lan SK. *Dengue hemorrhagic fever*. Rev. Med. Micro. 1995; 6:33-48.
- Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva. World Health Organization, 1997; 147(16-20): 463-4.
- Yamada K, et al. *Antibody responses determined for Japanese dengue fever patients by neutralization and immunoblotting inhibition assays demonstrate cross-reactivity between dengue and Japanese encephalitis viruses*. Clin Diagn Lab Immunol. 2003 Jul; 10(4): 725-8.
- Wocherstein J, et al. *Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus infections*. Wien Med Wochenschr (Linnaeus). 1997; 147(16-20): 463-4.
- Makino Y, et al. *Studies on serological cross-reaction in sequential flavivirus infections*. Microbiol Immunol. 1994; 38(12): 951-5.

59

Anexo 4: Boleta de resultados de la Prueba Rápida Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM Rapid

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA



BOLETA DE RESULTADOS Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM

Nombre: _____ Código de Paciente: _____

Lugar: _____ Fecha: _____

Anticuerpo	Resultado
IgG	
IgM	
IgG e IgM	

Interpretación de los resultados:

- IgG positivo: Indica infección previa con el virus del Dengue.
- IgM positivo: Indica infección reciente por el virus del Dengue (2 semanas a 6 meses)
- IgG e IgM positivo: Indica infección reciente por el virus del Dengue (2 semanas a 6 meses)

Investigador Responsable

Químico Biólogo Responsable

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA



BOLETA DE RESULTADOS Examen Rápido en Placa de Dengue IgG/IgM

Nombre: _____ Código de Paciente: _____

Lugar: _____ Fecha: _____

Anticuerpo	Resultado
IgG	
IgM	
IgG e IgM	

Interpretación de los resultados:

- IgG positivo: Indica infección previa con el virus del Dengue.
- IgM positivo: Indica infección reciente por el virus del Dengue (2 semanas a 6 meses)
- IgG e IgM positivo: Indica infección reciente por el virus del Dengue (2 semanas a 6 meses)

Investigador Responsable

Químico Biólogo Responsable

Anexo 5: Tablas utilizadas para comparar con la tabla 1 de resultados para calcular índice Kappa

Tabla No. 8 “Concordancia de presencia de Anticuerpos IgG e IgM contra dengue en Monterrico”

		ELISA		
		Positivo	Negativo	TOTAL
Prueba Rápida	Positivo	28	0	28
	Negativo	25	53	78
	TOTAL	53	53	106

Tabla No. 9 “Concordancia de presencia de Anticuerpos IgG e IgM contra dengue en La Candelaria”

		ELISA		
		Positivo	Negativo	TOTAL
Prueba Rápida	Positivo	21	0	21
	Negativo	9	60	69
	TOTAL	30	60	90

Tabla No. 10 “Presencia de Anticuerpos IgG e IgM contra dengue determinados por ELISA”

Género	Tipo de anticuerpo n(%)			Seropositividad n(%)		
	IgG	IgM	IgG/IgM	Positivos	Negativo	Totales
Monterrico	44 (41.5)	0 (0.0)	9 (8.5)	53 (50.0)	53 (50.0)	106
Candelaria	24 (26.7)	1 (1.1)	5 (5.6)	30 (33.3)	60 (66.7)	90
Total	69 (35.2)	1 (0.5)	14 (7.2)	78 (39.8)	118 (60.2)	196

Fuente: Datos experimentales