

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

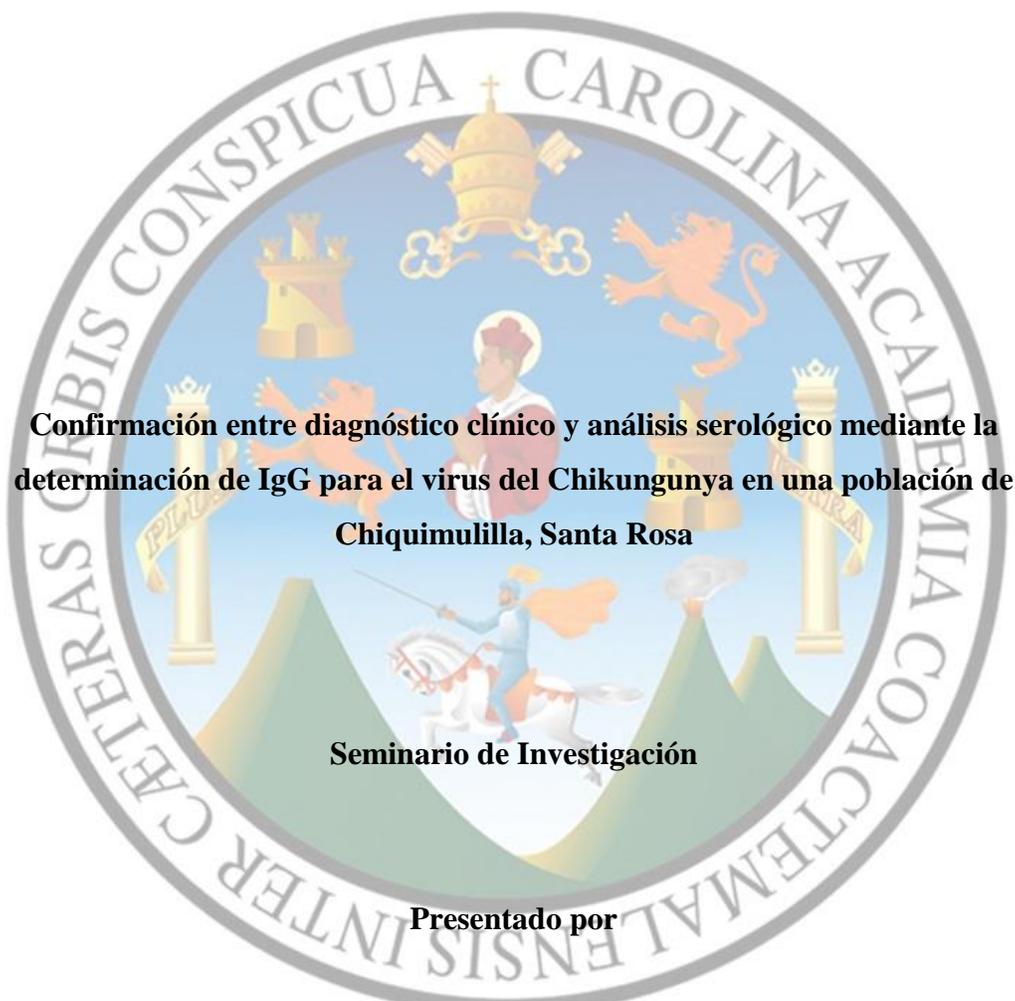


**Luz Andrea Vásquez Bárcenas  
Ana Gabriela Ovando Salazar**

**Químicas Biólogas**

**Guatemala, Octubre 2018**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**Confirmación entre diagnóstico clínico y análisis serológico mediante la  
determinación de IgG para el virus del Chikungunya en una población de  
Chiquimulilla, Santa Rosa**

**Seminario de Investigación**

**Presentado por**

**Luz Andrea Vásquez Bárcenas**

**Ana Gabriela Ovando Salazar**

**Para optar al título de**

**Químicas Biólogas**

**GUATEMALA, Octubre 2018**

## **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. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Carol Andrea Betancourt Herrera	Vocal V

## **AGRADECIMIENTOS**

- A DIOS** Por brindarnos la sabiduría, fortaleza y la oportunidad para trabajar y lograr nuestras metas.
- A NUESTROS PADRES** Por todo su esfuerzo, sacrificio incondicional e infinito amor en cada etapa de nuestras vidas. Este logro también es suyo.
- A NUESTROS HERMANOS** Karen y Amílcar son los mejores compañeros de vida que Dios pudo concedernos gracias por siempre apoyarnos.
- A NUESTROS AMIGOS** Por ser aquella familia que escogimos durante este largo viaje, por compartir buenos momentos y soportarnos en los malos, pero sobre todo por hacernos disfrutar este viaje.
- A NUESTRA ASESORA** Lic Isabel Gaitán por guiarnos, compartir su conocimiento y brindarnos su confianza para poder realizar esta investigación.
- A NUESTRO CO-ASESOR** Lic Carlos Rodas por el apoyo incondicional y por brindarnos las herramientas necesarias para llevar a cabo la investigación.
- A LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN** Unidad de investigación en Inmunología y Hematología (UDIHEMA) por avalar la realización de esta investigación
- A LA USAC** Nuestra Alma Mater y segundo hogar. Gracias por brindarnos el conocimiento y permitirnos formarnos como profesionales. Por permitirnos vivir momentos inolvidables

## ÍNDICE

I.	ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN	2
II.	ANTECEDENTES	4
A.	Fiebre de Chinkungunya	4
1.	Agente etiológico	4
a.	Características	4
2.	Vector	5
3.	Hospedero	7
4.	Transmisión	8
5.	Patogenia	9
6.	Cuadro clínico	10
7.	Reacción inmunitaria	13
8.	Epidemiología	16
B.	Diagnóstico	17
C.	Tratamiento	24
D.	Prevención	25
E.	Chiquimulilla, Santa Rosa	26
III.	JUSTIFICACIÓN	33
IV.	OBJETIVOS	34
V.	HIPÓTESIS	35
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS	36
A.	Universo de trabajo	36
B.	Muestra	36
C.	Recursos	37
D.	Metodología	39
E.	Diseño experimental	42
VII.	RESULTADOS	44
VIII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	48
IX.	CONCLUSIONES	53
X.	RECOMENDACIONES	54
XI.	REFERENCIAS	55
XII.	ANEXOS	61

## I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

La fiebre de Chikungunya es una forma relativamente rara de fiebre viral, poco estudiada, causada por un Alphavirus y es transmitida por la picadura de la hembra del mosquito *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. Fue descrita por primera vez durante un brote en el sur de Tanzania en 1952 en el suero de un paciente febril. La infección por este virus causa fiebre de aparición abrupta, dolor de espalda, mialgias, cefalea y erupciones cutáneas, pero la característica predominante es la presencia de poliartralgias, que comprometen a pequeñas y grandes articulaciones, que puede llegar a ser incapacitante y en algunos casos puede durar por varios años. No tiene tratamiento específico por lo que el manejo terapéutico de los pacientes se enfoca en el alivio de los síntomas (Pérez-Sánchez, Ramírez-Álvarez, Pérez-Gijón y Canela-Lluch, 2014).

El Chikungunya empezó a reemerger debido a factores como el cambio climático, las mutaciones virales, la diseminación del vector, la urbanización desorganizada, la falta de concientización e información en las poblaciones más vulnerables, el almacenamiento de agua en recipientes inadecuados por la falta de agua potable y la migración de las poblaciones (Dirección de Epidemiología, 2016).

En América, la aparición de casos del Chikungunya es reciente y se ha visto favorecida por la presencia del vector, convirtiéndose en un problema de salud pública al presentar tasas de mortalidad de 1:1.000 (Restrepo-Jaramillo, 2014).

En Guatemala, la mayoría de laboratorios a nivel nacional y regional no cuentan con tecnologías aprobadas para su diagnóstico, y este se basa únicamente en pruebas rápidas o en el diagnóstico clínico (Organización Panamericana de la Salud, 2017).

Esta investigación, tuvo como objetivo confirmar el brote reportado en octubre del 2014 en el municipio de Chiquimulilla, Santa Rosa; donde 2,200 pacientes fueron diagnosticados únicamente por el cuadro clínico (INE, 2013). Es importante determinar la concordancia entre el diagnóstico clínico con el de laboratorio, para determinar la presencia

real de la enfermedad en esa región del país; para el efecto se determinó la concentración de anticuerpos IgG en los pacientes reportados positivos clínicamente.

Con los resultados del estudio se logró que tanto la población afectada como las autoridades competentes conocieran el impacto de la infección por el virus, se enfatizara sobre los factores de riesgo y se fortalecieran las medidas preventivas,

## II. ANTECEDENTES

### A. Fiebre de Chinkungunya

La fiebre del Chinkungunya es una enfermedad viral transmitida por los vectores *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*, que a su vez están involucrados en la transmisión de otras enfermedades tropicales como el dengue y por la similitud de su sintomatología suele pasar desapercibido su diagnóstico en los lugares donde el dengue es frecuente (Tineo y Mier, 2014).

Esta infección causa fiebre y dolores severos en las articulaciones que se presentan por lo general de tres a siete días después de la picadura del mosquito (OPS, 2017).

#### 1. Agente etiológico

##### a. Características

El virus del Chikungunya pertenece al género Alphavirus de la familia Togaviridae. Posee un genoma de ácido ribonucleico (ARN) de una sola cadena con sentido positivo y una longitud de aproximadamente 11,5 Kb que codifica para cuatro proteínas no estructurales (nsP1, nsP2, nsP3 y nsP4) y tres estructurales (cápside, E1 y E2) (Díaz-Quiónéz, Ortiz-Alcántara, Frago-Fonseca, Garcés-Ayala, Escobar-Escamilla, Vázquez-Pichardo & Ramírez-González, 2015).

El Instituto Pasteur y el Centro de Investigaciones Científicas de Francia han definido la estructura viral como una partícula esférica de tamaño pequeño (diámetro aproximado de 60 a 70 nm) formada por una envoltura de fosfolípidos donde están ancladas las glicoproteínas E1 y E2, una nucleocápside icosaédrica y genoma de ARN (Anexo 1) (Weaver & Lecuit, 2015).

Las proteínas E1 y E2 son proteínas transmembrana que interactúan con la nucleocápside y forman picos en la superficie del virión. La proteína E2 se une a receptores celulares desconocidos y penetra en la célula por endocitosis, mientras que la E1 si está

expuesta a un pH ácido libera la nucleocápside en el citoplasma de la célula huésped. La nucleocápside está compuesta por 240 monómeros de proteínas de la cápside. Su ciclo replicativo es muy rápido y dura aproximadamente cuatro horas (Weaver & Lecuit, 2015).

Se han reconocido tres genotipos del virus: el asiático, el africano oeste y el africano este central-sur. Actualmente se reconoce que en América, el genotipo predominante es el asiático (Martínez-Fernández y Torrado-Navarro, 2015)

#### b. Ciclo de vida

Existen dos ciclos de transmisión del virus del Chikungunya: el selvático (enzoótico) y el urbano (endemo-epidémico) (Martínez-Fernández y Torrado-Navarro, 2015; Arce-Martínez y Núñez-Ramírez, 2014).

El primero ocurre en hábitats boscosos, y probablemente compromete a mosquitos arbóreos del género *Aedes* como vectores y a primates no humanos como reservorios. Esta forma de transmisión puede producir casos esporádicos en poblaciones cercanas a la selva; también los roedores y los pájaros pueden ser reservorios del virus durante los períodos no epidémicos (Martínez-Fernández y Torrado-Navarro, 2015).

El ciclo urbano es endemo-epidémico debido a que la distribución del virus sigue la distribución del vector, en las zonas urbanas de países tropicales, subtropicales y en la actualidad en países de clima templado (Anexo 2) (Arce-Martínez y Núñez-Ramírez, 2014).

## 2. Vector

La fiebre del Chikungunya es una zoonosis transmitida por las hembras de los mosquitos del género *Aedes*, que están presentes en todo el mundo, especialmente en zonas tropicales y subtropicales, donde el clima se mantiene estable todo el año. El virus se encuentra relacionado principalmente a dos especies *A. aegypti* el cuál se alimenta casi exclusivamente del humano y *A. albopictus* relacionado a humanos, primates no humanos, aves y roedores (Kraemer, Sinka, Duda, Mylne, Shearer, Brady & Hay, 2015).

Según varios estudios realizados, la mayoría de las hembras de *A. aegypti* pasan su período de vida en las casas o alrededor de ellas donde emergen como adultos. El humano es el factor clave que traslada rápidamente el virus dentro de las comunidades. En los últimos años *A. albopictus* se ha propagado en Asia, África, América y Europa, debido al comercio internacional, transporte 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 (OPS, 2017).

a. *Aedes aegypti*

La formación de los criaderos se produce al momento que el vector deposita sus huevos en recipientes que contienen agua “limpia”. Los huevos se quedan adheridos en la parte interna de los recipientes, eclosionan en dos o tres días y posteriormente se convierten en larvas cuando la temperatura y humedad son favorables; éstos constituyen la fase de resistencia del ciclo, dado que dentro del huevo se puede mantener vivo al embrión hasta un año (Kielian, Chanel-Vos & Liao, 2010).

Por lo general el adulto de *A. aegypti* vive de 15 a 30 días. 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 (Kielian, Chanel-Vos & Liao, 2010).

Se ha observado que, a diferencia de otros géneros de mosquitos, el *A. aegypti* pica o se alimenta varias veces de uno o varios huéspedes, hasta satisfacer sus necesidades alimenticias, factor importante en su capacidad como transmisor de enfermedades; esta frecuencia de alimentación entre cada ovipostura, aumenta las probabilidades de que ingiera y transmita el virus (CENAPRECE, 2014).

b. *Aedes albopictus*

El mosquito tigre (*A. albopictus*) se considera una amenaza para la salud, siendo una de las 100 especies más invasivas en el mundo. Su peligrosidad reside en su alta

capacidad de adaptación a otros climas y su resistencia a insecticidas, así como la resistencia de sus huevos al frío lo que dificulta el control de las poblaciones (Restrepo-Jaramillo, 2014).

A principios del siglo XXI se descubrió que una mutación en la envoltura del virus Chikungunya (mutación E1-A226V) permitió su adaptación a la especie *A. albopictus* (Restrepo-Jaramillo, 2014).

Una característica del mosquito *A. albopictus* es su capacidad de autogenia que le permite desarrollar su progenie sin una alimentación sanguínea, aumentando su densidad poblacional y por ende su distribución. Por otro lado, si se relaciona el potencial autogénico con la capacidad de transmisión transovárica, la nueva descendencia del *A. albopictus* puede transmitir el virus del Chikungunya sin la necesidad de que esta progenie se haya infectado inicialmente por vía hematófaga. Aunque exista evidencia experimental de transmisión vertical del genotipo ECSA (Este, Central, Sur África) del virus del Chikungunya en *A. aegypti*, no hay consenso frente a la transmisión vertical con *A. albopictus*. Es necesario estudios que confirmen este hallazgo como también la importancia epidemiológica de la transmisión vertical del virus en mosquitos (Espinosa, Weinberg, Rotela, Polop, Abril & Scavuzzo, 2016).

Los recientes brotes de Chikungunya se deben a la adaptación del virus al mosquito *A. albopictus* debido a una sustitución de una alanina (E1-226A) y a una valina (E1-226V) en la posición 226 en el gen E1. La nueva variante E1-226V se transmite de manera muy eficiente por este mosquito. El efecto de esta mutación, reduce la cantidad de virus que se necesita en la sangre de una persona infectada para que el *A. albopictus* se infecte al picarla y esto genere más transmisiones; es decir que el número de personas que pueden infectarse en un lugar es mayor (Weaver & Lecuit, 2015).

### **3. Hospedero**

Los humanos son el hospedero principal del virus del Chikungunya durante los períodos epidémicos. En los períodos interepidémicos, diversos vertebrados han sido

implicados como hospederos potenciales. Al presentarse la infección primaria se produce una inmunidad protectora de por vida contra el serotipo causante de la infección (OPS, 2017).

Los mosquitos adquieren el virus a partir de un huésped virémico. Después de un período promedio de incubación extrínseca de diez días, el mosquito es capaz de transmitir el virus a un ser humano sano. En los humanos picados por un mosquito infectado, los síntomas de enfermedad aparecen generalmente después de un período de incubación intrínseca de tres a siete días (Kantor, 2016).

#### **4. Transmisión**

La transmisión de virus de Chikungunya es de humano a mosquito, y de mosquito a humano (Acosta-Bas & Gómez-Cordero, 2005).

Existen dos periodos de incubación: la incubación extrínseca se produce en el vector y es de diez días a partir del cual el mosquito es capaz de transmitir el virus durante toda su vida a uno o más individuos susceptibles; y el período de incubación intrínseco es el que se produce en el humano y tiene una duración promedio de tres a siete días en el cual puede o no presentar manifestaciones clínicas (Anexo 3) (OPS, 2017).

El mecanismo de transmisión más importante es el biológico, en el cual el virus se multiplica en el vector. Luego de la ingestión de sangre por el mosquito hembra del género *Aedes* al picar a una persona infectada en período de viremia, se produce dentro del vector el período de incubación extrínseco antes mencionado. En ese momento se alcanza una carga viral infectante en las glándulas salivales del vector que al picar a un humano susceptible transmite la enfermedad (OPS, 2017).

La enfermedad no se transmite de persona a persona, ni a través de objetos, ni por vía oral, respiratoria o sexual. Según estudios realizados, puede existir transmisión vertical en el 48.7% de las gestantes infectadas por el virus del Chikungunya, lo que conlleva en algunos casos a desarrollar enfermedad neonatal grave, aunque es poco frecuente en las

etapas tempranas del embarazo. Aunque son escasos los reportes de transmisión por transfusión sanguínea, no se descarta este tipo de transmisión durante períodos epidémicos. Hasta el momento no se han descrito casos de infección por trasplante de órganos, sin embargo el virus del Chikungunya puede infectar la córnea humana y por lo tanto podría transmitirse por vía ocular durante su trasplante (Restrepo-Jaramillo, 2014).

## **5. Patogenia**

La fase aguda se caracteriza por la extensa diseminación del virus a los órganos diana como músculo, articulaciones, hígado y cerebro lo que genera una respuesta inflamatoria provocada por la infiltración extensa de linfocitos, células asesinas naturales, neutrófilos y macrófagos (Horcada, Díaz-Calderón y Garrido, 2015).

El incremento en los niveles de múltiples citoquinas y quimioquinas proinflamatorias (interferón alfa, la interleucina 6, la proteína de los monocitos 1/CCL-2 y la interleucina 8) se asocia con la miositis y la artralgia. Además, la secreción de metaloproteinasas en el tejido articular puede contribuir al daño articular. El cuadro inmunoquímico a nivel articular, corresponde a una respuesta inmunológica tipo Th-1 que lleva a una modulación de la respuesta inflamatoria durante la fase aguda y de convalecencia. Esta ausencia de regulación lleva a un proceso inflamatorio nocivo que persiste por más de un año (Horcada, Díaz-Calderón y Garrido, 2015).

Las lesiones articulares ocasionadas por el virus de la Chikungunya desencadenan la liberación del potasio intracelular, ocasionando la síntesis de sustancias vasoactivas como la bradicinina en el plasma y las prostaglandinas en la región del tejido dañado. Como consecuencia, se produce un aumento del dolor y de la permeabilidad vascular, acrecentando la producción de histamina por los mastocitos y de la serotonina desde las plaquetas, lo que produce potentes efectos vasculares estimulando nuevamente los receptores del dolor. La liberación de histamina y de la serotonina combinada con el potasio aumenta la permeabilidad vascular, generando edemas, enrojecimiento de las zonas afectadas, así como la perpetuación del dolor, erupciones y prurito cutáneos del tronco, la

cara y las extremidades. (Palacios-Martínez, Díaz-Alonso, Arce-Segura y Díaz-Vera 2015).

El resultado de las lesiones articulares inflamatorias y los cambios experimentados durante las fases aguda, crónica o latente de la fiebre del Chikungunya se deben a que los receptores al dolor son sensibilizados; especialmente cuando sustancias o agentes químicos son liberados por los tejidos dañados y por la misma inflamación, lo que modifica la permeabilidad de la membrana celular, liberando otras sustancias homólogas que tienden a difundirse hacia otras zonas prolongando el tiempo de la sensación de dolor (Weaver & Lecuit, 2015).

## **6. Cuadro clínico**

El virus puede desarrollar enfermedad aguda, subaguda y crónica. La enfermedad aguda se caracteriza por inicio súbito de fiebre (superior a 39°C) y dolor articular severo que puede durar entre tres y diez días. Otros signos y síntomas pueden incluir cefalea, dolor de espalda difuso, mialgias, náuseas, vómitos, poliartritis, erupción cutánea y conjuntivitis. Los síntomas articulares generalmente son simétricos y ocurren con más frecuencia en manos y pies, pero también pueden afectar articulaciones proximales. Además se puede observar tumefacción, frecuentemente asociada a tenosinovitis (Tineo y Mier, 2014).

Con frecuencia los pacientes se encuentran gravemente incapacitados por el dolor, la sensibilidad, la inflamación y la rigidez lo que les impide realizar actividades cotidianas obligándolos a permanecer en reposo. Aunque la mayoría de los pacientes tienden a sentirse mejor en los siguientes días o semanas, algunas personas pueden desarrollar dolores e inflamación en las articulaciones de manera crónica (Rocha, Lozano y Martínez 2005).

Entre 72 a 97% de las personas infectadas desarrollan enfermedad sintomática. En la enfermedad aguda, los signos y síntomas se inician de forma abrupta. La frecuencia de estos síntomas puede estar entre 85 a 100% para la fiebre, y de 90 a 98% para el dolor articular. La fiebre puede ser bifásica con un aumento abrupto al inicio de la enfermedad y que disminuye aunque los síntomas continúen. Las poliartralgias son las características

primordiales de esta enfermedad y compromete principalmente pequeñas articulaciones como falanges de manos y de pies, con 84 y 76.5% respectivamente; tobillos, 81.2% y aunque en menor proporción, también están comprometidas grandes articulaciones como rodillas 64.3%, hombros 53,5%, talones 49.8% y codos 36.6% (Restrepo-Jaramillo, 2014).

Los hallazgos de laboratorio muestran valores normales o moderadamente elevados de velocidad de eritrosedimentación y proteína C reactiva. Se presenta linfopenia en el 94% de los pacientes, trombocitopenia en 33% y las pruebas de función hepática pueden estar alteradas alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa (ALT y AST) en el 14% y en el 28% de los pacientes, respectivamente (Restrepo-Jaramillo, 2014).

La presentación clínica puede variar con la edad y la presencia de comorbilidades. Los neonatos, las personas de edad avanzada y aquellas que presentan enfermedades concomitantes pueden desarrollar formas más graves. La infección puede ser clínicamente inaparente o puede causar una enfermedad de variada intensidad. Luego de un período de incubación que puede ser de tres a diez días, (se han observado casos con un período de incubación entre una hasta 12 días), podrán aparecer las manifestaciones clínicas, aunque entre el 3% al 28% de las personas infectadas cursarán de manera asintomática y desarrollarán inmunidad permanente (Maguiña-Vargas, 2015).

También pueden presentarse exantema maculopapular muy pruriginoso, náuseas, vómitos y conjuntivitis. La fiebre suele durar de dos a tres días y asociarse a escalofríos y por lo general desaparece con el uso de antipiréticos. No suele observarse variación diurna. Puede ser continua o intermitente, y en general la desaparición de la fiebre no se asocia con empeoramiento de los síntomas clínicos (a diferencia de lo que ocurre en el dengue) (Palacios-Martínez et al., 2015).

El exantema maculopapular suele aparecer entre dos a cinco días después del inicio de la fiebre e incluye tronco y extremidades, aunque también puede afectar palmas, plantas y rostro. El exantema se presenta en aproximadamente la mitad de los pacientes. Otras lesiones de la piel incluyen lesiones vesículo-ampollares con descamación (más frecuentes

en los niños pequeños), úlceras aftosas y lesiones de tipo vasculítico. En la forma aguda los síntomas suelen remitir en 7 a 10 días, tras lo cual, la mayoría de los pacientes sentirá una mejoría en su estado general y una disminución del dolor articular (Restrepo-Jaramillo, 2014).

La forma sub-aguda y crónica está determinada por la persistencia de la artritis que se caracteriza por la afectación articular incapacitante que cede entre el segundo y tercer mes de evolución de la enfermedad, mientras que en la forma crónica la afectación articular persiste por más de tres meses y puede durar, según algunos estudios, hasta dos a tres años. La prevalencia de positividad a factor reumatoide en la fase crónica de la enfermedad varía entre el 25 y el 43%, siendo menor la positividad para anticuerpos anticitrularina. (Horcada, Díaz-Calderón y Garrido, 2015).

La artralgia inflamatoria es el síntoma persistente que se hace visible en las formas sub-agudas y crónicas, este síntoma es evidente en las mismas articulaciones que se vieron afectadas durante la etapa aguda, unido a esto, algunos pacientes desarrollan artropatía con artritis destructiva que se asemeja a la artritis reumatoidea o psoriásica. Se han encontrado hallazgos donde la poliartritis crónica sigue un curso persistente o intermitente, con o sin patrón migratorio y en ocasiones con recurrencia tras resolución del cuadro inicial. El porcentaje de afectados disminuye a lo largo del tiempo, siendo del 88% al 100% en las seis primeras semanas, llegando al 12% a los tres o cinco años, evolucionando hacia la recuperación total en un 34.4% de los casos, a una recaída en 55.6% o a una forma crónica en un 10% de los pacientes. Las recaídas pueden aparecer después de cuatro semanas de evidenciarse la infección primaria durando en promedio cuatro semanas. Algunos estudios han evidenciado que los pacientes con poliartritis crónica pueden cumplir criterios de artritis reumatoide, por lo que es necesario realizar un diagnóstico diferencial (Pérez-Sánchez et al., 2014).

Pueden desarrollarse trastornos vasculares periféricos transitorios, tales como el Síndrome de Raynaud y cambios oculares como uveítis anterior (ojo rojo doloroso y fotofobia), retinitis, epiescleritis (con lagrimeo, dolor y fotofobia), neuritis óptica, síndrome

de fatiga crónica, debilidad y depresión. Los factores de riesgo para la persistencia de los síntomas son la edad avanzada (mayores de 65 años), los trastornos articulares preexistentes y la enfermedad aguda más grave. La diabetes fue la mayor comorbilidad identificada como factor de riesgo para la presencia de artralgia crónica (Dirección de Epidemiología, 2016).

a. Manifestaciones atípicas

La infección por virus del Chikungunya puede transcurrir con insuficiencia cardíaca, arritmias, infarto del miocardio, miocarditis, y pericarditis que se han relacionado con enfermedad cardíaca de base. La falla aguda renal y nefritis pueden manifestarse durante la infección, sin embargo es poco frecuente. El compromiso ocular es otra complicación que puede manifestarse. Pueden presentarse cambios en la pigmentación de la piel, úlceras aftosas intertriginosas o dermatosis ampollosa. Las erupciones vesículo-ampollosas generalizadas, aunque raras, se presentan en recién nacidos (Pérez-Sánchez et al., 2014).

Se han descrito manifestaciones clínicas atípicas con daño de órganos que pueden complicar la evolución del paciente presentando un compromiso en el sistema nervioso central, que se manifiesta como meningoencefalitis, síndrome de Guillan-Barré, trastorno motor, accidente cerebrovascular, encefalitis desmielinizante entre otros, debido a la presencia del virus en el mismo (Maguiña-Vargas, 2015).

La gran mayoría de recién nacidos afectados por transmisión desde la madre nacen asintomáticos, desarrollan la fiebre y las manifestaciones articulares en los primeros 3 a 7 días de vida. La manifestación atípica más frecuente es la encefalitis: hasta en 90% y en algunos casos puede evolucionar a discapacidad permanente. La mitad de los neonatos presentan enfermedad severa (Baquero-Latorre, 2015).

## **7. Reacción inmunitaria**

El virus tiene varios mecanismos de inhibición de la respuesta antiviral mediada por el interferón (Horcada et al., 2015).

Existe poca investigación sobre la respuesta inmunológica de los individuos infectados por el Chikungunya; sin embargo, en el sistema inmunológico y óseo articular el proceso se inicia con la simple entrada del virus al cuerpo humano, provocando el bloqueo de los macrófagos, produciendo sustancias facilitadoras de la inflamación, entre ellas las prostaglandinas, citoquinas, interferones y factores de muerte tumoral, que pueden producir dolor local y un proceso inflamatorio nocivo. La inflamación y el dolor articular son regulados en el Sistema Nervioso Central (SNC) a nivel de su eje hipotalámico-hipofisario-adrenal, mediante la producción de la hormona pro inflamatoria (CRH) y mastocitos; lo que produce la liberación de las diferentes histaminas y posteriormente una auto-regulación con liberación de cortisol como respuesta antagónica produciendo un efecto antiinflamatorio; de esta manera se completa el ciclo de la inflamación articular ocasionada por el virus del Chikungunya (Weaver & Lecuit, 2015).

a. Factores inmunológicos

A nivel inmunológico se ha evidenciado que la primera barrera contra la cual se enfrenta el virus es la inmunidad natural a través de mecanismos citolíticos y no citolíticos (Caglioti, Lalle, Castilletti, Carletti, Capobianchi & Bordi, 2013).

A nivel de inmunidad celular, se produce liberación de interferón alfa e interleucinas 4 y 10 que establecen una respuesta adaptativa que induce una respuesta de linfocitos T citotóxicos (CD8+), los cuales se encargan de neutralizar y destruir las células infectadas mediante la liberación de enzimas y la unión al complejo mayor de histocompatibilidad I que se ancla a la superficie de las mismas. Posteriormente se produce una respuesta mediada por linfocitos T cooperadores (CD4+) que liberan interleucinas específicas, como lo son la interleucina 2, interferón gamma y factor de necrosis tumoral. Durante la fase aguda, se eleva el interferón alfa producido mediante la liberación de las interleucinas 1, 2 y el factor de necrosis tumoral, el efecto antiviral que produce el interferón incluye la inhibición de la replicación viral y la liberación de macrófagos y células asesinas naturales (Jaller, Rosero, Vidal, Parody, Jaller, Caballero y Celedón, 2016).

Los efectos del interferón alfa son potenciados por el interferón gamma una vez es secretado por los linfocitos T cooperadores (CD4+) activados. Los síntomas como el dolor muscular y la fiebre están relacionados con la producción de interferones. Considerando que la respuesta inmunitaria regula el control de la enfermedad, esta dependerá de la situación inmunitaria subyacente en cada paciente (Jalleret et al., 2016).

El inicio de la infección, induce una respuesta masiva de monocitos y macrófagos infectados que migran al tejido sinovial de los pacientes induciendo la inflamación, lo que explica la persistencia de los síntomas articulares a pesar de la corta duración de la viremia. Los monocitos y macrófagos infectados son los responsables de la diseminación a otros sitios, como el sistema nervioso central y con ello contribuyen al desarrollo de manifestaciones mediadas por una respuesta inmune en exceso (Van Duijl-Richter, Hoornweg, Rodenhuis & Smit, 2015).

Usualmente la enfermedad es autolimitada, con una duración del curso clínico entre siete y diez días. La recuperación se asocia con una respuesta inmune potente que puede conferir protección de por vida, pero en algunos casos pueden perdurar los síntomas crónicos después de la eliminación del virus en la sangre, porque puede persistir un reservorio viral activo en las articulaciones debido a la migración de los monocitos/macrófagos infectados (Palacios-Martínez et al., 2015).

El Chikungunya puede ocasionar lesiones directas temporales o definitivas sobre las articulaciones y sus componentes estructurales y funcionales: eliminando el líquido sinovial en su condición de lubricante articular, destruyendo la membrana y cápsula sinovial como productora y almacén de dicho líquido y dañando o desapareciendo el cartílago articular en su papel de amortiguador entre los huesos de las articulaciones (Horcada et al., 2015).

Dependiendo de la agresividad, intensidad de acción y duración de los efectos inmunológicos del virus, se puede producir el deterioro de los extremos de los huesos, así como la repetición periódica de dolores y molestias como si se repitiera la fase aguda de la enfermedad y que nunca mejora ni termina (Palacios-Martínez et al., 2015).

#### b. Tropismo celular y Tisular

El tropismo celular del Chikungunya en humanos se ha caracterizado por tener mayores tasas de replicación en las células satélites musculares, pero no así en los microtubos diferenciados; en contraste con los linfocitos B y T que no son susceptibles a ser infectados *in vivo*. Como sucede en los alfavirus, el Chikungunya es altamente citopático en cultivo de células humanas y ocasiona muerte celular por apoptosis. Las infecciones persistentes ocurren en los macrófagos esplénicos y células endoteliales que cubren los sinusoides hepáticos, siendo más frecuente en ancianos (Barba, 2015).

### 8. Epidemiología

La epidemia en la región de las Américas comenzó en la parte francesa de la Isla de San Martín y posteriormente se extendió a otras islas como Martinica, Guadalupe, San Bartolomé y Dominica donde se han alcanzado las mayores tasas de incidencia (Arce-Martínez y Núñez-Ramírez, 2014).

En diciembre 2013 se detectó por primera vez transmisión autóctona del virus Chikungunya en América. Desde entonces debido a la amplia distribución del mosquito, el virus se ha extendido rápidamente en el Caribe y en América del sur. Hasta el 2014 se han reportado 183,761 casos sospechosos, 5,294 confirmados incluyendo 21 fallecidos en las Islas del Caribe (República Dominicana, Haití y Martinica) (Restrepo-Jaramillo, 2014).

En Guatemala, el Ministerio de Salud informó que en el año 2014 se reportaron 17,209 casos de personas que sufren de la enfermedad; de estos 161 casos fueron confirmados en el Laboratorio Nacional de Salud mediante el análisis de Biología Molecular por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR). Los casos detectados han sido por medio de diagnóstico clínico y nexos epidemiológicos, lo que significa que son personas que presentan todo el cuadro clínico de síntomas pero no se les somete a prueba para confirmarlo ya que el Laboratorio Nacional de Salud analiza cada caso y decide que muestras ameritan realizar los análisis de biología molecular (Díaz-Quióné et al., 2015).

Todos los grupos de edad y ambos sexos pueden ser afectados, se considera que la presentación clínica varía con la edad, siendo los neonatos y los ancianos, más propensos a desarrollar formas más graves. Los individuos mayores a 65 años han presentado una tasa de mortalidad 50 veces mayor a la de los adultos jóvenes (menores a 45 años), lo cual se relaciona a que los adultos mayores presentan con mayor frecuencia enfermedades concomitantes subyacentes o respuesta inmunológica disminuida (Martínez-Fernández y Torrado-Navarro, 2015).

La tasa de ataque en epidemias recientes oscilaron entre el 38% al 63%; entre el 3% y el 28% de los pacientes son asintomáticos y el 0.3% pueden presentar formas atípicas o severas. Los grupos de mayor riesgo que están propensos a presentar defunciones son recién nacidos, adultos mayores y personas con enfermedades crónicas. En Guatemala, Zacapa, Santa Rosa, Retalhuleu, El Progreso, Izabal y Quetzaltenango fueron los departamentos que presentaron mayores tasas de incidencia que oscilaron entre 48.58 a 241.36 por cada 100,000 habitantes y el resto de departamentos presentaron menores tasas de incidencia que oscilaron entre 0.08 a 48.57 por cada 100,000 habitantes (OPS, 2017; MSPAS, 2016).

## **B. Diagnóstico**

Se ha elaborado una serie de métodos 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, la experiencia y conocimientos técnicos disponibles, los costos y el tiempo de recolección de las muestras (Caglioti et al., 2013).

Existen técnicas directas e indirectas para la demostración viral en el laboratorio:

### **1. Diagnóstico directo**

- a. Pruebas para la visualización de las partículas virales

Se emplean 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) (Pérez-Sánchez et al., 2014).

b. Pruebas para demostración de antígenos virales

Permiten descubrir y caracterizar un virus en cultivo celular cuando todavía no se produce el efecto citopático 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 (Pérez-Sánchez et al., 2014).

c. Pruebas de detección del material genético

Descubren el material genético específico viral conservado y replicable ya sea que se encuentre en un fluido, en una célula o tejido, se encuentre activo o latente; los ensayos mayormente utilizados son: amplificación genética (reacción en cadena de la polimerasa, PCR; Reacción en cadena de la ligasa o LCR, ADN ramificado e hibridación (sondas) (Acosta-Bas & Gómez-Cordero, 2005).

## **2. Diagnóstico indirecto**

Estos ensayos se clasifican en tres grupos con base a la cuantificación de la reacción antígeno-anticuerpo.

a. Capacidad del anticuerpo para unirse al antígeno

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 (Acosta-Bas & Gómez-Cordero, 2005).

b. Capacidad de los anticuerpos para bloquear la función viral

Estos 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 (Acosta-Bas & Gómez-Cordero, 2005).

c. Medición directa de la interacción antígeno-anticuerpo

Estos miden directamente la interacción antígeno-anticuerpo como por ejemplo: la inmunofluorescencia indirecta (IFI), el radioinmunoensayo (RIA), el Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), Inmunoblot y Western blot (Acosta-Bas & Gómez-Cordero, 2005).

d. Pruebas rápidas

Entre los métodos rápidos más utilizados esta la inmunocromatografía. Se han implementado numerosas pruebas rápidas para el diagnóstico del Chikungunya. 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. Estas pruebas rápidas son útiles para el diagnóstico por tamizaje y entre sus ventajas más importantes se puede mencionar que su realización es sencilla, ágil (tarda menos de una hora) y no requiere equipo ni laboratorio especializado (Ritacco, 2012).

Los científicos del Instituto de Investigación Biomédica de las Fuerzas Armadas de Francia (IRBA; Marsella, Francia) evaluaron la eficacia diagnóstica de pruebas para el virus del Chikungunya que fueron aprobadas por la Comisión Europea:

- SD Bioline® Chikungunya IgM (Standard Diagnostics Inc® Yongin, República de Corea.
- CTK Biotech Inc® Chikungunya IgM Combo Prueba Rápida (CTK Biotech Inc®. San Diego, CA, EUA).

La prueba de diagnóstico rápido SD Bioline®, mostró una sensibilidad del 30% y una especificidad del 73% para el virus Chikungunya, con 39% de falsos positivos y 57% de falsos negativos. Asimismo, las pruebas CTK Biotech Inc® mostraron una mala sensibilidad del 20% y una especificidad en el rango aceptable del 93% para el virus del Chikungunya con 36% de falsos negativos y 33% falsos positivos. Determinándose que las

pruebas rápidas deben ser evaluadas previamente antes de ser utilizadas como herramienta en el contexto clínico, sin embargo sirven como una medida para control y prevención (Ortiz, 2014).

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 Chikungunya, aunque estas pruebas tengan la mejor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico, este método requiere de material específico que puede no estar disponible en los laboratorios clínicos de diversas partes del mundo (Porta, 2014).

Para el diagnóstico de Chikungunya se utilizan tres tipos principales de pruebas: aislamiento viral, reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR), análisis de anticuerpos IgM a partir del día siete, determinación de anticuerpos IgG o análisis de anticuerpos neutralizantes que muestran los títulos ascendentes (Porta, 2014).

### **3. Diagnóstico diferencial**

Principalmente se debe distinguir el diagnóstico clínico de la fiebre Chikungunya con el Dengue, considerando que ambas enfermedades pueden ocurrir al mismo tiempo en un paciente. En el Cuadro 1 se muestra la comparación de las características clínicas. Las enfermedades que pueden considerarse en el diagnóstico clínico diferencial son: Dengue, Leptospirosis, Malaria, Meningitis, artritis post-infecciosa, otros virus: Mayaro, rubéola, sarampión, parvovirus, enterovirus (Dirección de Epidemiología, 2016).

Además, la fiebre Chikungunya puede presentarse de forma atípica o puede coexistir en el mismo paciente con otras enfermedades infecciosas como el dengue o la malaria. Por ello, las enfermedades a ser consideradas en el diagnóstico diferencial variarán en relación a características epidemiológicas tales como el lugar de residencia, antecedentes de viajes y exposición (Ortíz, 2014).

**Cuadro 1.** Diagnóstico diferencial con el virus del Chikungunya

<b>Características</b>	
<b>Leptospirosis</b>	Antecedente epidemiológico (en regiones con antecedentes de inundaciones recientes, o exposición laboral o recreacional de piel o mucosas a tierra húmeda, vegetación o agua contaminada con orina de animales infectados, particularmente roedores). Clínicamente presenta fiebre mayor de 7 días, sudoración, anemia hemolítica, ictericia, afección pulmonar con o sin hemoptisis, insuficiencia hepática y renal. Mialgias graves localizadas en los músculos de la pantorrilla y congestión conjuntival o hemorragia subconjuntival.
<b>Artritis post-infecciosa</b>	Característicamente las artritis post infecciosas afectan una o más articulaciones, generalmente grandes. La fiebre reumática se presenta más comúnmente en niños como poliartritis migratoria que afecta sobre todo a articulaciones grandes.
<b>Paludismo</b>	Fiebre clásicamente periódica, escalofríos, sudoración, anorexia, náuseas, cefalea, mialgias. Anemia, ictericia, esplenomegalia. Puede evolucionar a encefalopatía, insuficiencia renal y dificultad respiratoria
<b>Meningitis</b>	Fiebre alta con rigidez de nuca o alteración del estado de conciencia. En todos los casos de meningoencefalitis durante un brote de fiebre Chikungunya, esta infección debe descartarse, especialmente en población pediátrica.

Fuente: Dirección de Epidemiología. (2016). Enfermedades Infecciosas: Fiebre Chikungunya. Guía para el equipo de salud. Ministerio de Salud de la Nación. Buenos Aires. Argentina

#### **4. Algoritmo diagnóstico de la infección por Chikungunya**

##### **a. Aislamiento 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 de sangre periférica. Es la técnica ideal para detectar al virus del Chikungunya en los primeros tres días de la enfermedad (OPS, 2017).

El aislamiento del virus del Chikungunya, además de su interés diagnóstico, permite realizar estudios de caracterización biológica, antigénica, molecular y genética de los nuevos virus que hayan sido detectados (Restrepo-Jaramillo, 2014).

b. 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 el virus del Chikungunya. 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. Una ventaja de este método es la capacidad de determinar el título viral en una muestra clínica, la cual se puede usar para estudiar la patogenia de la enfermedad del Chikungunya (Barba, 2015).

El ARN viral puede ser fácilmente detectado por reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa (RT-PCR) en muestras de suero obtenidas de pacientes en fase aguda de la infección. Las infecciones por virus Chikungunya causan altos niveles de viremia (hasta  $1 \times 10^7$  unidades formadoras de placas por mL), que suele durar cuatro a seis días después de la aparición de la enfermedad. Por lo tanto RT-PCR realizada dentro de los primeros 7 días en una muestra de fase aguda, confirma la infección por virus del Chikungunya. Los productos de RT-PCR de muestras clínicas pueden usarse para la genotipificación del virus, lo que permite comparaciones con virus procedentes de otras fuentes geográficas (OPS 2017).

c. ELISA de captura para la detección de anticuerpos IgM e IgG

Para la detección de anticuerpos IgM en los sueros de los pacientes, se captura mediante anticuerpos específicos para IgM humana revestidos en un microplato o pocillo. Los antígenos específicos del Chikungunya, están ligados a los anticuerpos IgM anti-Chikungunya capturados y son detectados mediante anticuerpos monoclonales o policlonales del virus, directa o indirectamente conjugados con una enzima que transforma un substrato sin color en productos con color. La densidad óptica se mide mediante

espectrofotómetro. La IgM aparece a los 7 días de la infección y se mantiene por encima de los 3 meses, raramente más de un año (Horcada, Díaz-Calderón y Garrido, 2015).

La prueba ELISA IgG se usa para la detección de infecciones por Chikungunya y es positiva 15 días después del surgimiento de la IgM y perdura por años. El uso de ELISA para la captura de IgG específico para envoltura y membrana, permite la detección de anticuerpos IgG durante un período de 10 meses o años después de la infección (Mardekian & Roberts, 2015).

d. Pruebas de Neutralización por reducción de placas (PRNT)

Las pruebas de neutralización por reducción de placas (PRNT) son muy útiles ya que son muy específicas para alfavirus y son el patrón estándar para la confirmación de los resultados de pruebas serológicas. El mayor inconveniente de PRNT es que requiere el uso de virus vivo. La prueba debe ser realizada bajo laboratorio con nivel de bioseguridad 3 (OPS, 2017).

La determinación de anticuerpos IgM específicos para Chikungunya se realiza mediante ELISA de captura del anticuerpo IgM seguido de PRNT. Hasta el año 2010, no habían reactivos de ELISA IgM validados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) comercialmente disponibles. En situaciones en las que no se dispone de PRNT, se pueden utilizar otras pruebas serológicas (por ejemplo inhibición de la hemaglutinación [HI]) para identificar una infección reciente por un Alfavirus (OPS, 2017).

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 se establece, en primer lugar, sobre la base de la clínica y la epidemiología de la enfermedad. La confirmación es absolutamente necesaria para poder establecer el diagnóstico diferencial con otras enfermedades transmitidas por mosquitos del género Aedes, como el dengue que es endémico en las mismas áreas geográficas. El uso de la prueba pertinente para el estadio de la infección, ayudará a obtener un diagnóstico correcto y oportuno (Restrepo-Jaramillo, 2014).

## C. Tratamiento

Hasta la fecha no existe un tratamiento específico ni una vacuna disponible para su prevención, sin embargo como Chikungunya induce característicamente una enfermedad autolimitada no mortal, el tratamiento ha sido totalmente de apoyo para los síntomas. Con los signos primarios, incluso fiebre y dolor en las articulaciones con inflamación, analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios son el tratamiento más adecuado. Comúnmente, estos agentes podrían incluir aspirina, pero debido a los informes de posibles manifestaciones hemorrágicas, otras opciones, incluyendo el paracetamol, el ibuprofeno, el tratamiento con esteroides y agentes no esteroideos como la indometacina son preferibles a la aspirina. Desafortunadamente, algunas de estas terapias pueden tener efectos secundarios graves, por lo tanto, la necesidad de un uso prolongado debe ser una consideración en los regímenes de tratamiento. En los casos crónicos de artritis debido a Chikungunya, se demostró mediante un estudio que fosfato de cloroquina puede proporcionar alivio a los pacientes con una respuesta limitada a los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos. Además de esta terapia con medicamentos, se recomiendan acciones que incluyen reposo en cama y fluidos (Cagliotiet al., 2013).

La falta de un tratamiento específico para la infección de Chikungunya ha dado lugar a varios estudios de laboratorio para identificar agentes antivirales eficaces contra este virus. Compuestos que incluyen ribavirina, los polisacáridos sulfatados (carragenina, fucoidan y sulfato de dextrano), 6-azauridina, glicirricina e interferón  $\alpha$  han sido evaluados por su capacidad para inhibir la replicación de Chikungunya en cultivo celular. Con la excepción de los polisacáridos, se encontró que todos tienen tanto la actividad antiviral potente y selectiva (Kantor, 2016).

Además, estos cuatro compuestos han demostrado eficacia en el tratamiento de otras enfermedades, incluyendo virus de la fiebre hemorrágica, herpes virus y Alfavirus encefalíticos que justifican pruebas adicionales para su uso contra Chikungunya. En particular, las terapias múltiples pueden resultar útiles, ya que cada tratamiento tiene

acciones farmacológicas distintas que pueden producir efectos sinérgicos, así como reducir la probabilidad de resistencia (Caglioti et al., 2013).

En resumen, la vacunación sería el método ideal de prevención de la infección y control de brotes en una enfermedad infecciosa que induce inmunidad perenne. Se han probado múltiples estrategias entre las que se encuentran la preparación de virus completo inactivado, vacunas vivas atenuadas, proteínas recombinantes o partículas similares al virus y vacunación de ADN, pero ninguna ha sido aprobada y algunas han sido abandonadas. Por lo tanto, hasta ahora la prevención radica en la protección contra la picadura del mosquito y el control del vector. La protección individual se puede lograr a través del uso de mosquiteros impregnados en repelentes como la permetrina, el uso de ropas que cubran las zonas de la piel normalmente expuestas a la picada de los insectos (Staples, Breiman & Powers, 2009).

El vector *A. aegypti* no ha sido controlado en su totalidad. A pesar que el diclorodifeniltricloroetano es eficaz contra el *A. aegypti*, no lo ha sido contra el *A. albopictus*. Las medidas de control del brote están dadas principalmente por la eliminación de los focos de larvas de mosquitos, evitar los viajes a las zonas de transmisión e informar a los turistas o a las personas que deseen viajar sobre los sitios en los que se ha reportado transmisión, sobre todo aquellas personas que son susceptibles de llegar a la mortalidad por su condiciones de edad y sus causas subyacentes (OMS, 2017).

#### **D. Prevención**

Para poder prevenir la enfermedad del Chikungunya se deben tomar acciones y utilizar los mismos métodos desarrollados para el control del dengue, basadas en informar al paciente, familia y la comunidad sobre dicha enfermedad, el mosquito transmisor, la forma de transmisión, para así proteger a los pacientes de las picaduras de mosquitos, educar sobre la eliminación de criaderos, la importancia en el uso de barreras como telas mosquiteras durante las etapas febriles de los pacientes. Denotar la importancia de la información de las comunidades hacia las áreas de epidemiología para promover el control

del vector y de este modo cortar la transmisión y lograr disminuir la cantidad de mosquitos adultos que pueden estar infectantes. Asegurarse que en su hospital, centro de salud, consultorio, no se encuentren criaderos del mosquito ya que podría constituirse en centro de infección para el resto de los pacientes que concurren a ser atendidos (CDC, 2014).

## **E. Chiquimulilla, Santa Rosa**

Inicialmente se le llamó Santa Cruz Chiquimulilla, actualmente se le conoce sólo como Chiquimulilla. Celebra su fiesta titular del 30 de abril al 4 de mayo. El día 3, la iglesia celebra el día de la Santa Cruz, se organizan eventos religiosos, culturales, sociales y deportivos en honor al Niño Dios. Asimismo celebra la fiesta de Navidad del 21 al 25 de diciembre (APRODESC, 2004).

### **1. Características geográficas**

El municipio de Chiquimulilla, se encuentra situado en la parte sur del departamento de Santa Rosa, en la Región IV o Región Sur-Oriente. Limita al Norte con el municipio de Cuilapa y Pueblo Nuevo Viñas (Santa Rosa); al Sur con el Océano Pacífico; al Este con los municipios de Pasaco y Moyuta (Jutiapa), Santa María Ixhuatán y San Juan Tecuaco (Santa Rosa); y al Oeste con el municipio de Guazacapán (Santa Rosa). Cuenta con una extensión territorial de 499 Km<sup>2</sup>, y se encuentra a una altura de 294 metros sobre el nivel del mar, su clima es cálido. Se encuentra a una distancia de 39 Km de la cabecera departamental y a 107 Km de la ciudad capital de Guatemala (Anexo 4) (INE, 2013).

Cuenta con una villa, 12 aldeas y 57 caseríos. Las aldeas son: Casas Viejas, Nancinta, San Rafael, El Ahumado, Oliveros, Sinacantan, Las Lisas, Placetas, Tierra Blanca, Los Limones, San Miguel Aroche y Los Cerritos (APRODESC, 2004).

Chiquimulilla cuenta con: el Canal de Chiquimulilla y las playas: Las Lisas, El Ahumado, Chapetón y Hawaii, lo que lo hace ser un lugar cálido con temperaturas que van

de los 25 a los 30°C. Así también con centros arqueológicos de: Casas Viejas, El Ujuxte, Los Cerritos y Santa Clara (APRODESC, 2004).

Esta bañado por los ríos: Oliveros, El Jute, Frío, Grande, Ixcatuna, Las Flores, Las Marías, Los Esclavos, Margaritas, Paso Caballos, Pinzón, Sinacantón, Ulapa, Umoca, Urayala y Uxuna; los riachuelos: Aguacoco, Champote, Güichapi, La Corona y Santa Catarina; la laguna Coatepeque. El Canal de Chiquimulilla situado al sur de los departamentos de Santa Rosa, Escuintla y Jutiapa, presta numerosos servicios a los habitantes de los poblados aledaños. Se origina en la laguna de Sipacate, en el municipio de La Gomera, Escuintla y corre paralelo al Océano Pacífico y a una distancia media de 500 metros. Recibe las aguas de los ríos Naranjo, Acomé, Guacalate, Achiguate, María Linda, Paso de Caballos y Los Esclavos. Tiene un largo aproximado de 140 kilómetros de los cuales son navegables 120; el resto es navegable solamente para embarcaciones de escaso calado (APRODESC, 2004).

## **2. Características demográficas**

Chiquimulilla es un municipio con una proporción alta de población no indígena 99% y tan solo el 1% (534 personas) se identificaba como indígena, de la etnia maya y xinka (INE, 2013). La población de Chiquimulilla es eminentemente joven, habiendo un 53% menor de 20 años (INE, 2013).

Las personas del territorio aún mantienen parte de sus costumbres, por ejemplo, el consumo de comidas tradicionales como el muxque (preparado con menudos de cerdo) iguashte (ya sea flor de izote, pitos, iguana, entre otros, a los que se les incorpora pepita de ayote molida en una especie de recado) y tamales cuya masa está compuesta con maíz y frijol colado (APRODESC, 2004).

## **3. Características socioeconómicas**

El 36% de la población mayor de siete años del municipio de Chiquimulilla se considera económicamente activa según el censo del 2002. El 50% de esta población económicamente activa (PEA) se identifica como trabajadores no calificados, estando por

arriba de la media departamental (46%), lo que muestra la necesidad existente de impulsar la formación técnica de recursos humanos para la productividad. El municipio no cuenta con infraestructura ni condiciones adecuadas para la formación técnica (SEGEPLAN, 2010).

El 56% de la PEA trabaja en el área de agricultura, siendo la producción más importante la caña de azúcar, granos básicos (maíz y frijol) y frutas tropicales. En los últimos años se ha incrementado dentro del territorio el cultivo de la caña de azúcar, colocándose en uno de los primeros lugares, desplazando la actividad ganadera del municipio. En la industria y el comercio trabaja el 31%, sobre todo en las microrregiones del casco urbano y El Astillero (SEGEPLAN, 2010).

Su economía se basa en la agricultura de productos como: arroz, café, caña de azúcar y sal; en su producción pecuaria tiene: crianza de ganado vacuno, porcino, aves de corral y productos lácteos; en el sector industrial cuenta con: beneficios de arroz, beneficio de café, fábricas de hielo y 40 salinas. Sus habitantes se dedican a la producción artesanal de talabartería, carpintería, sastrería, zapatería, taller mecánico, molienda de caña y panela. La relación empleo/población es del 33.54%. La proporción de la PEA que trabaja por cuenta propia es el 42.65%, por lo cual no cuentan con prestaciones labores, ni seguro social (INE 2013).

El índice de pobreza general en este municipio es del 63.4% con una pobreza extrema del 19.8%. Con relación a los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM), la meta municipal para el 2015 es de 19.5% existiendo una brecha de -0.3% (SEGEPLAN 2010).

El índice de desarrollo humano (IDH) al 2002 es de 0.621, situándose arriba de la media departamental que es de 0.604, con un índice de salud de 0.642, un índice educativo de 0.652 y un índice de ingresos de 0.569 (SEGEPLAN 2010).

El índice de calidad de vida ubica al municipio de Chiquimulilla en el número 234 del listado nacional con un nivel de vida alto, razón por la cual está fuera de los municipios priorizados por el programa presidencial Mi Familia Progres (APRODESC. 2004).

La clasificación de necesidades básicas insatisfechas es un método directo para identificar carencias críticas en una población y caracterizar la pobreza. Usualmente utiliza indicadores directamente relacionados con cuatro áreas de necesidades básicas de las personas (vivienda, servicios sanitarios, educación básica e ingreso mínimo), disponibles en los censos de población y vivienda (SEGEPLAN 2010).

a. Sistema de Salud en Chiquimulilla

El distrito municipal de salud de Chiquimulilla contaba con 45,201 habitantes de los cuales 18,800 fueron cubiertos por los servicios institucionales del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), 20,000 por el programa de extensión de cobertura, 1,800 por el Instituto Guatemalteco de Seguro Social (IGSS) y 4,601 por otras instituciones (sanatorios u hospitales privados), no habiendo comunidades sin acceso a servicios de salud. En general, hay mejor acceso al primer nivel de salud desde que se implementó el programa de extensión de cobertura, así como los convenios de colaboración con recurso humano con la brigada cubana y recientemente con la facultad de Medicina de la Universidad de San Carlos de Guatemala (SEGEPLAN 2010).

Chiquimulilla cuenta con un centro de salud con categoría funcional de centro de atención médica permanente, con servicios de maternidad, en donde se tiene un horario ampliado de atención las 24 horas del día, los siete días de la semana. Nueve puestos de salud convencionales en aldeas Nancinta, Los Cerritos, San Miguel Aroche, La Bomba, Casas Viejas, Las Lisas, El Ahumado, San Rafael y El Hawaii, dieciséis centros de convergencia (El Ujuxtal, La Morena, La Morenita, Las Escobas, Piedra Grande, Placetas, Pueblo Nuevo La Reforma, Sinacantan, El Astillero, La Faja, La Ginebra, La Guardiania, La Viña Del Señor, Santa Rosa, Entre Selvas, y Gibraltar) atendidos por la Diócesis de Santa Rosa de Lima y Mi Pequeño Paraíso con atención ambulatoria. En el marco del programa de extensión de cobertura, cuentan con una clínica del IGSS, que asiste por

accidentes, en espera de ampliar su cartera de servicios, 22 farmacias, 24 clínicas médicas particulares y 2 sanatorios privados, siendo el municipio de Santa Rosa que presenta la más amplia y variada oferta de servicios privados (MSPAS, 2014).

#### i. Infraestructura en Salud

En términos generales la infraestructura de la red de servicios de salud en el municipio es aceptable, sin embargo es necesario darle mantenimiento oportuno a los edificios para que se continúen prestando el servicio con calidad. Se ha iniciado la construcción y ampliación de espacios físicos para elevar el Centro de Atención Permanente a la categoría funcional de centro de atención integral materno infantil (CAIMI), pero se requiere de más inversión para poder prestar todos los servicios esenciales de salud a la población de la región sur del departamento. De los 16 centros de convergencia, solo Placetas y La Morena tienen infraestructura por lo que deben de ser priorizados para contratación de personal de enfermería y tener atención permanente en salud. Es necesario construir nuevos centros de convergencia, equiparlos y contratar personal de enfermería permanente para las aldeas Sinacantan, La Faja, Las Escobas, Pueblo Nuevo la Reforma y El Astillero. A mediano plazo podría considerarse también construir los demás Centros de Convergencia para atención ambulatoria (APRODESC, 2004).

#### ii. Programas de prevención

El municipio de Chiquimulilla es considerado endémico para enfermedades vectoriales como Dengue y Paludismo, reportándose para el año 2008, 4 casos positivos de Malaria y 2 casos de Dengue, serológicamente confirmados. Debido a tal situación, se realizan acciones constantes de la división del programa de enfermedades transmitidas por vectores, para reducir la proliferación de zancudos (MSPAS, 2014).

Para la enfermedad de tuberculosis, Chiquimulilla reporta la incidencia más elevada de casos de todo el departamento, con 10 casos positivos confirmados (8 femeninos y 2 masculinos), los cuales recibieron tratamiento farmacológico, en algunos adoptando la estrategia TAES (tratamiento acortado estrictamente supervisado) (MSPAS, 2014).

Debido a la escasa accesibilidad a las pruebas de tamizaje para detectar VIH, y la baja disponibilidad y accesibilidad local de medicamentos anti-retrovirales, es difícil cuantificar si se ha detenido y logrado reducir para el año 2015 la propagación del VIH/SIDA (MSPAS, 2014).

### iii. Mortalidad

Durante 2008 murieron en Chiquimulilla 7 menores de 1 año y 5 niños de 1 a 4 años, tomando en cuenta que según el MSPAS nacieron en 2008 un total de 835 niños, da una tasa de mortalidad infantil de 8.3 por mil nacidos vivos (NV) y una mortalidad en la niñez de 1.6/1000 NV, lo cual contribuye al alcance del Objetivo de Desarrollo del Milenio (ODM) nacional. El número de muertes registradas pueden ser inferiores a la realidad, ya que con la entrada en vigencia de RENAP, algunas muertes de neonatos no fueron reportadas. Sin embargo, se ha venido mejorando bastante la atención materno-infantil, desde la entrada en vigencia del programa de extensión de cobertura y la ampliación del horario de atención en el Centro de Atención Permanente (MSPAS, 2014).

Las principales causas de mortalidad en la niñez siguen siendo diarreas (41.7%), neumonías (16.7%), insuficiencia cardíaca (8.3%), leucemia (8.3%) y resto de causas (25%). Se debe, por ende fortalecer los servicios de primer nivel de atención sobre todo en los aspectos educativos y preventivos a nivel de auto cuidado familiar, por lo cual se ha priorizado la formación de auxiliares de enfermería y su asignación en 10 centros de convergencia para brindar atención permanente, cubriéndose un total de 12,173 habitantes de 33 comunidades del municipio (6,788 habitantes de 14 comunidades de la jurisdicción 1 de Chiquimulilla y 5,385 habitantes de 19 comunidades de la jurisdicción 2 de Chiquimulilla). La mortalidad infantil tiene mayor incidencia en las micro regiones donde las madres tienen menos escolaridad y hay más problemas de disponibilidad de alimentos (APRODESC, 2004).

En el año 2008 se reportaron 182 muertes generales, lo que da una tasa de 4.2/1000 habitantes. Entre las principales causas de mortalidad general persisten las enfermedades crónicas-degenerativas (infarto del miocardio, diabetes mellitus,

insuficiencia renal, cáncer, cirrosis, eventos cerebro vasculares) con un 45.6%, las enfermedades infecciosas (neumonías) con un 14.8%, los hechos de violencia (heridas por arma de fuego) con un 10.4%, las toxicomanías (intoxicación alcohólica) con un 4.9% y resto de causas con 24.3%. Se puede atribuir la mortalidad en el municipio en buena parte a los estilos de vida no saludables, al clima de violencia imperante en la región de la costa sur, y en menor grado a las toxicomanías e infecciones aunado al estado nutricional por la pobreza, falta de educación y limitación en el acceso a servicios (MSPAS, 2014).

La Dirección del Área de Salud de Cuilapa, Santa Rosa, según los datos estadísticos reportados a la fecha 26 de Septiembre del 2015, data que durante el año 2014 hasta la fecha de reporte cuentan con 2,200 pacientes diagnosticados por clínica para el virus del Chikungunya, los cuales no cuentan con reporte de diagnóstico serológico proporcionado por el Laboratorio Nacional de Salud (Instituto de Salud Pública, 2014). De los casos reportados para el virus del Chikungunya por las áreas de salud, durante las primeras 19 semanas epidemiológicas del año 2015, se identifica una tasa de incidencia de 38.81 por cada 100,000 habitantes. Siete áreas de Salud se encuentran sobre la media nacional (255 casos) y se ubica el 80% del total de casos del país (Anexo 5).

### III. JUSTIFICACIÓN

La fiebre causada por el virus Chikungunya produce fiebre intensa y artralgia múltiple, que suele aliviarse en pocos días. Sin embargo en un porcentaje de casos las artralgias se hacen crónicas, situación que requiere una respuesta adecuada de los servicios de salud (OPS, 2017)

Siendo una enfermedad que por primera vez afecta al continente americano y a la República de Guatemala, toda la población es susceptible al virus, debido a que su vector *Aedes aegypti*, se encuentra presente en el territorio nacional, principalmente en las regiones costeras del país. A partir del primer brote registrado en octubre del 2014, se han presentado un gran número de casos positivos estimados (63,000) hasta el 2017, lo cual ha generado un impacto en la calidad de vida de la población guatemalteca además de representar un nuevo problema de salud pública (MSPAS, 2017).

Dado a la alta prevalencia del mosquito vector *Aedes aegypti* y el brote reportado en octubre del 2014, se eligió Chiquimulilla, Santa Rosa como área de estudio (INE, 2013).

En vista de la alta incidencia de pacientes reportados con casos de fiebre por Chikungunya es necesario confirmar el diagnóstico clínico con el diagnóstico de laboratorio. Para el efecto se detectó la presencia de IgG contra el virus del Chikungunya en los sueros de pacientes que fueron reportados positivos mediante la impresión clínica, asimismo se logró determinar la presencia real de la enfermedad en la región.

## **IV. OBJETIVOS**

### **A. GENERAL**

Confirmar el diagnóstico clínico de Chikungunya con el resultado serológico de anticuerpos IgG para el virus en una población de Chiquimulilla, Santa Rosa.

### **B. ESPECÍFICOS**

1. Determinar la presencia de IgG para Chikungunya en pacientes con diagnóstico clínico en una población de Chiquimulilla, Santa Rosa.
2. Informar a la población de Chiquimulilla, Santa Rosa, sobre el impacto del virus de Chikungunya y su prevención.
3. Evaluar los hallazgos clínicos relacionados a la infección por el virus del Chikungunya en una población de Chiquimulilla, Santa Rosa.

## **V. HIPÓTESIS**

El 50% de los pacientes de la población de Chiquimulilla, Santa Rosa diagnosticados por el cuadro clínico para Chikungunya presenta anticuerpos IgG para el virus.

## **VI. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **A. Universo de trabajo**

Habitantes de Chiquimulilla, Santa Rosa; perteneciente a cualquier grupo étnico, sexo, edad, oficio, nivel socioeconómico o zona de residencia (central o alrededores).

### **B. Muestra**

En Chiquimulilla, Santa Rosa fueron reportados 2,200 casos positivos por clínica para el virus del Chikungunya, estos datos fueron aportados por el Área de Salud de Cuilapa, Santa Rosa; a partir de estos casos reportados. Se realizará un muestreo aleatorio de un mínimo de 92 pacientes del municipio. Tomando en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

#### **1. Criterio de inclusión**

- Habitantes de Chiquimulilla, Santa Rosa
- Sexo femenino o masculino
- Cualquier edad
- Pacientes diagnosticados por el cuadro clínico para el virus del Chikungunya

#### **2. Criterio de exclusión**

- Personas que se nieguen a participar voluntariamente
- Personas que no firmen el consentimiento informado
- Personas que no fueron diagnosticadas por el cuadro clínico para el virus del Chikungunya

## **C. Recursos**

### **1. Recursos Humanos**

#### **a. Seminaristas**

- Br. Luz Andrea Vásquez Bárcenas
- Mtra. Ana Gabriela Ovando Salazar

#### **b. Asesor**

- M.A. Isabel Cristina Gaitán Fernández

#### **c. Co-asesor**

- Lic. Carlos Enrique Rodas Estrada

### **2. Recursos Institucionales**

- Laboratorio de Unidad de Investigación de Inmunología y Hematología (UDIHEMA) del Departamento de Citohistología de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC
- Área de Salud de Cuilapa, Santa Rosa.
- Centro de Salud de Chiquimulilla, Santa Rosa.

### **3. Recursos Físicos**

#### **a. Equipo**

- Centrífuga
- Cronómetro
- Incubadora a 37°C
- Lector de ELISA con longitud de onda de 450 nm
- Pipetas automáticas de 2-10 µL
- Pipetas automáticas 50-100 µL
- Pipetas automáticas 100-1000 µL

b. Materiales

- Agujas para sistema al vacío de 21 G x 1 ½
- Algodón
- Bolsas negras para basura común
- Bolsas rojas para desecho bioinfeccioso
- Camisas para el sistema al vacío
- Curitas
- Descartador de desechos punzo cortantes
- Viales de 1.5 mL
- Gradillas
- Guantes
- Hielera
- Jeringas 5 mL de 21 G x 1 ½
- Ligaduras
- Papel parafilm
- Puntas para pipeta de 10 µL
- Puntas para pipeta de 100 µL
- Puntas para pipeta de 1000 µL
- Tubos al vacío sin anticoagulante de 4 mL con separador
- Tubos de ensayo de 5 mL

c. Reactivos

Se utilizará el Kit de ELISA IgG específica para el virus del Chikungunya DRG®

- Placas para microtitulación de poliestireno con 96 micropozos
- Control positivo
- Control negativo
- Calibrador
- Solución tampón para dilución
- Antígeno de Chikungunya (contiene las glicoproteínas de la envoltura viral E2/E1)
- Conjugado diluido para Chikungunya

- Conjugado para Chikungunya (anticuerpo monoclonal marcado con peroxidasa).
- Solución Tampón de lavado
- Sustrato TMB (Tetrametilbencidina)
- Solución de parada

## **D. Metodología**

### **1. Selección de la Muestra**

Los pacientes fueron seleccionados al azar por medio de la base de datos proporcionada por el Área de Salud de Cuilapa, Santa Rosa, con los casos reportados por clínica positiva para el virus del Chikungunya. Los pacientes fueron convocados una semana antes de la toma de muestra, se contrató un vehículo el cual anunció el día que se iba a realizar la visita a las viviendas de aquellos pacientes seleccionados al azar. De igual forma se contó con el apoyo del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social por medio del Área de Salud de Cuilapa, Santa Rosa, la cual envió un oficio a todos los centros y puestos de salud del municipio, informando sobre la investigación a realizarse.

Al ingresar a las viviendas se informó de la investigación a realizar, se presentó el documento proporcionado por el Área de Salud en aval a la investigación, se les entregó a los pacientes el consentimiento informado (Anexo 6), si aceptaban participar en el estudio firmaron y se procedió a realizar una entrevista utilizando la ficha epidemiológica para el Chikungunya (Anexo 7). Se extrajo por punción venosa 5 mL de sangre total utilizando tubos al vacío del cual se separó suero para su procesamiento.

La centrifugación de las muestras se llevó a cabo en el centro de salud ubicado en el casco urbano de Chiquimulilla, Santa Rosa. El suero fue separado y colocado en viales tipo eppendorf de 1.5 mL previa y debidamente identificados; se congelaron y fueron transportados en cadena de frío hacia el Laboratorio de Unidad de Investigación de Inmunología y Hematología (UDIHEMA) del departamento de Citohistología de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

## 2. Procedimientos

### Fundamento de la prueba

Se utilizó un Ensayo de inmunoabsorbencia ligado a enzima (ELISA) que determina la presencia de IgG contra el virus del Chikungunya.

Este ensayo contiene impregnado en los pozos IgG humana (anti IgG Humana DRG®), la cual se une a los anticuerpos IgG de la muestra del paciente. Como antígeno utiliza un lisado celular del virus de Chikungunya. Al formarse este complejo se le agrega un anticuerpo biotinilado de tipo monoclonal contra el virus, estreptavidina conjugada con peroxidasa y un sustrato de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB).

- Se dejó que todos los reactivos alcanzaran temperatura ambiente antes de usar (previo a su uso deben estar almacenados de 2 a 8°C).
  
- a. Preparación del buffer de lavado
  - Se diluyó la solución de tampón de lavado 10x para obtener una solución 1X.
  - Se mezclaron 120 mL de la solución tampón de lavado 10X con 1080 mL de agua desmineralizada, mezclar hasta obtener una solución homogénea.
  
- b. Preparación de la Enzima Conjugada para el Chikungunya
  - Se agregaron 90 µL del conjugado de Chikungunya a 9 mL de conjugado diluido.
  - Se mezcló por invertido hasta homogenizar.
  
- c. Preparación de controles positivos, negativos y muestras.
  - Se realizó una dilución 1:100 de los controles y las muestras
  - Se agregaron 4 µL de muestra o control en 396 µL de solución tampón para dilución de muestras.
  - Se homogenizó mezclando por pipeteo varias veces.

- d. Ensayo de anticuerpos para el virus de Chikungunya
- Se agregó 50  $\mu\text{L}$  de las muestras o controles diluidas a cada pocillo.
  - Se cubrió toda la placa con papel parafilm
  - Se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos.
  - Se lavó 6 veces utilizando la solución de lavado.
  - Se agregaron 300  $\mu\text{L}$  de solución tampón de lavado a cada pocillo en cada ciclo de lavado.
  - Se golpeó fuertemente sobre una superficie dura recubierta de papel para eliminar el excedente de solución.
  - Se añadió 50  $\mu\text{L}$  de antígeno de Chikungunya en cada pocillo.
  - Se cubrió la placa con parafilm e incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos.
  - Durante la incubación se preparó una cantidad adecuada de enzima conjugada para el Chikungunya.
  - Se lavó la placa 6 veces con solución tampón de lavado 1x.
  - Se agregó 50  $\mu\text{L}$  de enzima conjugada a cada uno de los pocillos.
  - Se recubrió la placa con papel parafilm y se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos.
  - Se lavó 6 veces con solución tampón de lavado.
  - Se dispuso 75  $\mu\text{L}$  de sustrato TMB en cada pocillo
  - Se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente ( $20$  a  $25^{\circ}\text{C}$ ) por 10 minutos.
  - Se añadió 50  $\mu\text{L}$  de reactivo de paro en cada pocillo y se dejó a temperatura ambiente ( $20$  a  $25^{\circ}\text{C}$ ) por 1 minuto.
  - Se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 450 nm.
  - Se realizó por duplicado el control positivo, negativo y el punto de corte de los cuales se calculó la media.
  - Para cumplir con los requerimientos del control de calidad de la prueba y que la corrida fuera considerada válida, la media del control negativo debe ser menor o igual a 0.200; la media del control positivo debe ser mayor o igual a 0.500 y la media del punto de corte debe ser mayor a la media del control negativo.

- Para la interpretación de resultados se calculó la razón de estado inmune (ISR, Immune Status Ratio), dividiendo la absorbancia obtenida de cada una de las muestras entre la media del punto de corte.
- Las muestras con valores de  $ISR \geq 1.0$  se consideraron reactivas. Es decir que la muestra poseía anticuerpos IgG específicos para Chikungunya.
- Las muestras con valores de  $ISR < 1.0$  se consideraron no reactivas. Es decir que la muestra no poseía anticuerpos IgG específicos para Chikungunya.
- Las muestras con valores de ISR dentro del rango 0.9 - 1.10 se repetirían por duplicado para verificar resultados.

## **E. Diseño experimental**

### **1. Número de muestra**

Se determinó un número mínimo de muestra de 92 pacientes seleccionados al azar con un límite de error del 10%, a un nivel de confianza del 95%.

### **2. Diseño de muestreo**

Utilizando la base de datos proporcionada por el Área de Salud de Cuilapa, la selección de los participantes se realizará aleatoriamente, se tomará muestra de todas las personas que habiten en cada vivienda seleccionada al azar hasta completar 92 personas diagnosticadas por clínica con Chikungunya, a quienes se les pedirá firmar un consentimiento informado, indicando que aceptan de forma voluntaria ser parte del estudio.

### **3. Diseño estadístico**

Se utilizó la probabilidad condicional que existe entre el resultado clínico y el serológico para el virus de Chikungunya en los pacientes seleccionados aleatoriamente y que aceptaron participar en el estudio. Se trabajó con un nivel de confianza del 95%, tomando como límite de error de estimación el 10%. Los resultados se trataron con una

variable binomial, determinando presencia o ausencia de anticuerpos IgG contra Chikungunya.

Al obtener el resultado del análisis serológico de IgG para el virus del Chikungunya tanto para pacientes con presencia o ausencia del anticuerpo se relacionó con el diagnóstico clínico para obtener la razón de dos probabilidades condicionales (Razón de verosimilitud). Siguiendo la fórmula para probabilidad:

$$\frac{P(A)}{P(A|B)}$$

Donde (A) es IgG (+) y (A | B) es igual a IgG| Clínica positivo (Wayne, 2002).

#### **4. Evaluación de Resultados**

- Se evaluaron las fichas epidemiológicas de cada paciente, los factores clínicos que orientaron al diagnóstico positivo del paciente.
- Mediante los resultados de la muestra de suero se cuantificó la inmunoglobulina IgG que determinó si el paciente tiene la presencia de ésta o no.
- Si la serología era positiva para Chikungunya, el cuadro clínico fue confirmado.
- De ser negativa, se reevaluarían los factores clínicos para establecer un mejor diagnóstico para el virus del Chikungunya.
- Al obtener los resultados se determinó la frecuencia de IgG contra el Chikungunya de la población muestreada con un nivel de confianza del 95%.

## VII. RESULTADOS

En este estudio se realizó la confirmación del diagnóstico clínico mediante el análisis serológico con la determinación de IgG para el virus de Chikungunya en una población de Chiquimulilla, Santa Rosa. Dicha población había sido diagnosticada en 2014 solamente por el cuadro clínico presentado. La muestra evaluada consistió en 139 pacientes con diagnóstico sospechoso de la infección. (Anexo 10)

En la Tabla 1 se muestran los pacientes que fueron evaluados, tomando registro de la edad, género y lugar de procedencia. El 65.46% fueron del género femenino y el 34.54% del género masculino, siendo la mayoría mayores a 51 años. El 39.57% procede del área rural mientras que el 60.43% del área urbana.

**Tabla 1.** Datos sociodemográficos de los pacientes estudiados

Edad	Sexo		Lugar de Procedencia	
	Femenino n(%)	Masculino n(%)	Rural n(%)	Urbana n(%)
0-10	4 (2.80)	2(1.40)	3 (2.16)	3 (2.16)
11-20	5 (3.60)	5(3.60)	3 (2.16)	7(5.04)
21-30	12 (8.60)	4(2.80)	3 (2.16)	13(9.35)
31-40	10 (7.10)	10(7.10)	11(7.91)	9(6.47)
41-50	22 (15.80)	7(5.00)	10 (7.19)	19(13.67)
51 o más	38 (27.30)	20(14.30)	25(17.99)	33(23.74)
Total	91 (65.46)	48 (34.54)	55 (39.57)	84 (60.43)

Fuente: Datos Experimentales

n: Número de pacientes

%: Porcentaje

La evaluación clínica estuvo a cargo del personal médico de la cual se recabaron los datos siendo los síntomas más frecuentes fiebre en 93 pacientes (66.91%), 57 pacientes con prurito (41.00%), 101 pacientes con dolor articular (72.66%), 12 pacientes con inflamación en las articulaciones (8.63%) como se observa en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Signos y síntomas clínicos en pacientes evaluados

<b>Síntomas</b>	<b>Total</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Fiebre	93	66.91
Prurito	57	41.01
Dolor articular	101	72.66
Náuseas	6	43.17
Vómitos	4	28.78
Dolor de cabeza	16	11.51
Conjuntivitis	5	3.60
Artritis	2	1.44
Entumecimiento	2	1.44
Escalofríos	5	3.60
Dolor de huesos	8	5.76
Inflamación de articulaciones	12	8.63
Inflamación de ganglios	1	0.72

Fuente: Datos Experimentales

Los resultados de la prueba de IgG por el método de ELISA se presentan en la Tabla 3. De los 139 pacientes con diagnóstico clínico de Chikungunya, 87 fueron reactivos (62.59%) y 52 no reactivos (37.41%).

**Tabla 3.** Resultados serológicos de IgG específica para el virus Chikungunya

<b>Anticuerpo</b>	<b>Reactivo n (%)</b>	<b>No Reactivo n (%)</b>	<b>Total</b>
IgG	87 (62.59)	52 (37.41)	139
Total	87 (62.59)	52 (37.41)	139

Fuente: Datos Experimentales

En la Tabla 4 se muestra la presencia de IgG contra el virus Chikungunya en base a la edad de los pacientes evaluados. Siendo el grupo etario de 51 años o más, el grupo con

mayor cantidad de personas evaluadas y asimismo el grupo con mayor seropositividad dando un total de 35 casos confirmados para Chikungunya.

**Tabla 4.** Presencia de IgG contra Chikungunya según edad y género

Edad	Masculino		Femenino		Total		Total
	Reactivo	No Reactivo	Reactivo	No Reactivo	Reactivo	No Reactivo	
0-10	0	2	3	1	3	3	6
11-20	3	2	5	0	8	2	10
21-30	1	3	6	6	7	9	16
31-40	5	5	8	2	13	7	20
41-50	3	4	18	4	21	8	29
50 o más	9	11	26	12	35	23	58
Total	21	27	66	25	87	52	139

Fuente: Datos experimentales

Se relacionaron los síntomas más frecuentes con el análisis serológico (Tabla 5) y se encontró en los pacientes con IgG para Chikungunya 51 pacientes con fiebre (54.84%) 36 pacientes con prurito (63.16%), 56 pacientes con dolor articular (55.45%). Estos tres signos y síntomas corresponden a la triada diagnóstica referida en la literatura para el virus del Chikungunya.

**Tabla 5.** Distribución de los síntomas y resultados de serología

<b>Síntomas</b>	<b>Reactivo n (%)</b>
Fiebre	51 (54.84)
Prurito	36 (63.16)
Dolor articular	56 (55.45)
Náuseas	4 (66.70)
Vómitos	3 (75.00)
Dolor de cabeza	12 (75.00)
Conjuntivitis	2 (40.00)
Artritis	0 (0.00)
Entumecimiento	0 (0.00)
Escalofríos	2 (40.00)
Dolor de huesos	3 (37.50)
Inflamación de articulaciones	9 (75.00)
Inflamación de ganglios	0 (0.00)

Fuente: Datos Experimentales

El dolor articular más frecuente en los pacientes evaluados fue el dolor de manos con 30.59% (26 casos), dolor de tobillos con un 36.47% (31 casos) y dolor de rodillas 28.24% (24 casos) como se observa en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Distribución de las articulaciones afectadas con serología positiva

<b>Articulación afectada</b>	<b>Reactivo (%)</b>
Articulación de la muñeca	14 (53.85)
Articulación del tobillo	19 (61.29)
Articulación de las rodillas	13 (54.17)
Otras articulaciones	3 (75.00)

Fuente: Datos experimentales

## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En los últimos años las enfermedades vectoriales como el Chikungunya han sido relacionadas con factores ecológicos, biológicos y con la situación económica mundial. Debido a la persistencia del agente causal y la proliferación de los vectores que favorecen su dispersión, ha aumentado el número de casos sobre todo en países en vías de desarrollo como Guatemala (Becerra y Verdezoto, 2016).

La zona costera de Guatemala tiene el ambiente propicio para la proliferación del agente causal de la infección, siendo Chiquimulilla, uno de los municipios de Santa Rosa mayormente afectados. En la Tabla 1, se muestran los datos epidemiológicos de la población muestreada en este municipio con diagnóstico clínico positivo de Chikungunya, tomando en cuenta los datos reportados por el MSPAS en el 2014. Del total de pacientes muestreados (n=139) el 39.57 % procede del área rural y 60.43% del área urbana. Se ha identificado que la falta de un suministro continuo de agua para consumo humano en el casco urbano de Chiquimulilla, ha obligado a la población a almacenarla de forma inadecuada; esto favorece a la proliferación de mosquito en este sector, por esta razón se ha centrado más en el casco urbano del municipio la vigilancia epidemiológica.

De igual forma, la mayoría de pacientes que proceden del área rural no se presentan a los puestos ni centros de salud cuando hay síntomas sospechosos de infección por el virus de Chikungunya; muchas veces por falta de información, por lo que no son registrados en las fichas epidemiológicas, y por tal razón no son reportados al área de salud, haciendo que las estadísticas sean incompletas en esta región del país (Olano, 2016).

De los 139 pacientes evaluados de la población de Chiquimulilla Santa Rosa, 91 pacientes fueron del género femenino y 48 del género masculino. Esta distribución de género se debió a que la toma de muestras se realizó en horario laboral, captando en su mayoría pacientes femeninas, que se dedican a las labores del hogar, lo que les permitió participar en la jornada con mayor facilidad.

A pesar de que la población de Chiquimulilla, Santa Rosa es eminentemente joven, la población de la tercera edad fue la de mayor muestreo ya que no representa una fuerza de trabajo activa para el hogar, por lo que esta población permanece más tiempo en las viviendas (INE, 2013). La infección por el virus del Chikungunya no tiene una predisposición hacia una edad específica, por lo que todo paciente es vulnerable a la misma. Sin embargo, el virus puede causar infecciones graves en recién nacidos, niños menores de 10 años, mujeres embarazadas y personas de la tercera edad (Weaver & Lecuit, 2015). La población que se muestreó en menor proporción fue la que se encontraba en la edad de 0 a 10 años, ya que los encargados o padres de familia manejan cuidados especiales y la mayoría no aprobó el consentimiento para ser partícipe del estudio.

En la Tabla 2 se muestran los signos y síntomas presentados en la población muestreada de Chiquimulilla, Santa Rosa, datos que fueron obtenidos durante la entrevista y la ficha epidemiológica de los pacientes; siendo fiebre (66.91%), prurito (41.01%) y dolor articular (72.66%), los más prevalentes. Dado que estos síntomas y signos pertenecen a la tríada diagnóstica para Arbovirus, los profesionales de la salud orientaron su diagnóstico a la infección de Chikungunya según se reporta en el brote de octubre 2014 (OPS, 2017), esto sin tomar en cuenta el diagnóstico diferencial que se debe de hacer con otras infecciones por Arbovirus como el Dengue y Zika.

Los resultados serológicos de la determinación de IgG para el virus del Chikungunya en la población de estudio se pueden observar en la Tabla 3, donde 87 pacientes fueron positivos y 52 negativos; lo que indica que de los casos reportados en 2014 el 62.59% fueron positivos. Esto deja un total de 37.41% casos negativos a los cuales se les debe de determinar el diagnóstico conclusivo, ya que se trató de pacientes sintomáticos. Los resultados negativos pueden deberse a que los pacientes que presentan la misma tríada clínica que es característica para Dengue y Zika, fueron diagnosticados como Chikungunya sin el análisis de laboratorio que pudiera confirmar la infección.

La relación entre el análisis serológico y el diagnóstico clínico para la población de Chiquimulilla con respecto al género y edad se ve reflejada en la Tabla 4. Los casos

confirmados positivos para el género femenino fueron un total de 66 lo que corresponde a un 72.52% de la población femenina muestreada, y los casos confirmados positivos para el género masculino fueron 21 (43.75%). El género no es un factor predisponente para adquirir la infección por el virus de Chikungunya, ya que se presenta tanto en hombres como en mujeres, la diferencia de porcentajes en este muestreo se debe a que la población femenina es la que tiene mayor permanencia en el hogar, siendo la masculina la de la fuerza laboral en esta región. Con respecto a la edad, se muestrearon en su mayoría pacientes mayores a 50 años, lo que no permite generalizar la incidencia de la infección respecto a este parámetro.

En la Tabla 5, se observan los síntomas que presentaron los pacientes muestreados en la población de Chiquimulilla, Santa Rosa, con respecto al análisis serológico realizado, siendo los más frecuentes fiebre, prurito y dolor articular. El síntoma con mayor porcentaje de la población con IgG positiva fue el prurito con 63.16% seguido del dolor articular con un 55.45% y posteriormente la fiebre con un 54.84%. El porcentaje global de pacientes positivos que presentaron la triada fue de 57.82%. Sin embargo, también sobresale la inflamación articular, la cual podría ser tomada en cuenta como un elemento clave para la historia clínica del paciente como signo diferencial en la infección de Chikungunya siempre y cuando se acompañe de un diagnóstico serológico confiable. Por tanto, la triada diagnóstica no es un referente definitivo para el descarte o confirmación de la infección por Chikungunya.

Aunque la mayoría de los casos obedece a un patrón tradicional, existen otras manifestaciones atípicas dependientes de los efectos directos del virus, la respuesta inmunológica de los pacientes e inclusive la toxicidad de los medicamentos, por lo que las manifestaciones como dolor de huesos, conjuntivitis, entumecimiento de extremidades, inflamación articular pueden presentarse en el curso de la infección (Tabla 6). Un gran porcentaje de la población sigue padeciendo dolores e inflamación articular de forma crónica, debido a que el virus libera sustancias pro-inflamatorias, las cuales generan dolor o molestias que van desapareciendo paulatinamente. Dentro de las manifestaciones atípicas

en la población del estudio con serología positiva está la inflamación articular en un 75% de los pacientes.

En la Tabla 6 se presentan las articulaciones más afectadas en los pacientes evaluados. A pesar que las manifestaciones reumáticas son fluctuantes para la infección por el virus del Chikungunya, se ha descrito que la artritis es simétrica; estas manifestaciones también pueden presentarse en otro tipo de patologías en las cuales la historia clínica cursa por dolor articular. Debido a esto, se ve en la necesidad de realizar un diagnóstico diferencial utilizando análisis serológicos que sean capaces de descartar otras afecciones. Las articulaciones de las manos, rodillas y tobillos fueron las más afectadas en los pacientes del estudio que fueron confirmados por serología.

De los 26 pacientes que presentaron dolor en las articulaciones de las muñecas 14 (53.85%) presentaron serología positiva para IgG contra el virus de Chikungunya. De 24 pacientes con dolor en las articulaciones de las rodillas, 13 (54.17%) presentaron anticuerpos IgG y de los 31 pacientes con dolor en las articulaciones de tobillos (61.29%) fueron positivos para IgG del virus. El dolor articular en los tobillos es otro hallazgo clínico importante que permite orientar el diagnóstico clínico de Chikungunya, y hacer un diagnóstico definitivo siempre y cuando se confirme con el análisis serológico.

Para un diagnóstico correcto, se debe de tomar en cuenta que el cuadro clínico orienta significativamente, sin embargo se debe ser consciente que la presunción clínica es una posibilidad y con frecuencia no se tiene la certeza de un diagnóstico definitivo. El manejo de una cuidadosa historia clínica, una adecuada interpretación de la misma y la necesidad inminente de exámenes de laboratorio para confirmar un diagnóstico, hacen necesaria la integración global de todos los profesionales de salud.

Dado que, para este estudio se utilizó una probabilidad de verosimilitud, se determinó que por cada dos pacientes que fueron diagnosticados con Chikungunya tomando en cuenta solamente el cuadro clínico, uno sería positivo para la presencia de IgG

contra el virus, lo que indica una necesidad de realizar una prueba de laboratorio para confirmar el diagnóstico (Wayne, 2002).

Los resultados de la presente investigación fueron entregados a la población muestreada de Chiquimulilla, Santa Rosa a través de un informe de resultados serológicos (Anexo 8). Los pacientes fueron convocados a una reunión en la comuna municipal en la cual fue explicado el resultado obtenido en el estudio, así como información sobre la prevención de esta enfermedad. Posterior a esto, se entregó un informe general de los resultados obtenidos a la municipalidad y al área de Salud de Cuilapa, Santa Rosa.

Algunos aspectos a considerar en el diagnóstico de Chikungunya es que en la fase aguda la carga viral es elevada, por lo que las técnicas moleculares son el estándar de oro para el diagnóstico; a pesar de tener un 100% de especificidad y sensibilidad, estas técnicas tienen un costo muy elevado lo que hace imposible que la mayoría de laboratorios cuenten con esta metodología. Mientras que, en una fase tardía la carga viral es indetectable y no es posible utilizar técnicas moleculares, la determinación del anticuerpo IgG específico por medio de ELISA puede ayudar a confirmar el diagnóstico. La prueba ELISA utilizada para este estudio posee una sensibilidad y especificidad mayor a 90% por lo que hace que sea una prueba con alta confiabilidad.

Sin embargo, una de las desventajas de la prueba ELISA utilizada en este estudio, es que se utiliza como antígeno un lisado del virus de Chikungunya. Esta característica disminuye la especificidad de la prueba, dando reacciones cruzadas (falsos positivos) ante la presencia de anticuerpos (IgG) producidos contra otros Arbovirus como el Dengue y Zika.

Actualmente en el mercado no se cuenta con una prueba serológica que utilice anticuerpos monoclonales específicos para el virus de Chikungunya, por lo que se utilizó la prueba anteriormente descrita.

## **IX. CONCLUSIONES**

- El diagnóstico clínico para el virus del Chikungunya fue confirmado en 62.59% de los casos.
- El reporte de investigación entregado a las autoridades de Chiquimulilla, Santa Rosa generó la necesidad de confirmar el diagnóstico de Chikungunya por medio de un análisis serológico confiable.
- Los principales signos y síntomas que se presentaron en los pacientes evaluados, fueron fiebre, dolor articular y prurito dando un porcentaje global de 57.82% de casos positivos, por lo que la triada clínica es confiable si existe un análisis serológico.
- La inflamación articular es un hallazgo clínico importante para la confirmación de la infección producida por el virus del Chikungunya. Por tanto, la triada diagnóstica no es un referente definitivo para el descarte o confirmación de la infección.

## **X. RECOMENDACIONES**

- Es necesario realizar un diagnóstico diferencial basado en serología para distinguir Chikungunya de otras infecciones transmitidas por arbovirus.
- Para todo paciente que presente dolor articular crónico se recomienda realizar un diagnóstico de laboratorio incluyendo la determinación de IgG para el virus del Chikungunya en las regiones donde el virus es frecuente.
- Al no poder emplear pruebas diagnósticas perfectas o estándares de oro, los exámenes solamente podrán aumentar o disminuir la probabilidad del diagnóstico de la enfermedad por lo que es necesario realizar una prueba de laboratorio para confirmar la infección.
- Es necesario emplear pruebas con metodologías más específicas junto con la historia clínica del paciente para el diagnóstico de este tipo de infecciones ya que el uso de pruebas rápidas debe utilizarse únicamente para tamizaje en poblaciones endémicas.

## XI. REFERENCIAS

- Acosta-Bas C, Gómez-Cordero I. (2005). Biología y métodos diagnósticos del dengue. *Revista Biomédica*, 16 (2), 113- 137.
- APRODESC. (2004). Programa de Apoyo al Proceso de Descentralización. Chiquimulilla, Santa Rosa. Pp. 1-8
- Arce-Martínez, S. y Núñez-Ramírez, F. (2014). Chikungunya: Una nueva lucha comienza. *Artrópodos y salud. México. Revista de Divulgación Científica*, 1(2), 8
- Baquero-Latorre, H. (2015). La fiebre de Chikungunya en el período neonatal. *Revista Salud Uninorte*, 31(3), 642-650.
- Barba, J. (2015). Fiebre Chikungunya. ¿Es acaso la próxima amenaza? *Revista Latinoamericana de Patológica Clínica Medicina de Laboratorio*, 62(1), 20-32.
- Becerra Benitez, M B y Verdezoto Morejón, L E. (2016). *La vigilancia epidemiológica en las enfermedades transmitidas por vectores en la comunidad de Chaupiacocha Parroquia Balzapamba, Cantón San Miguel, Provincia Bolívar, Periodo septiembre 2015- enero 2016*(Tesis de pregrado). Universidad Estatal de Bolívar. Ecuador
- Caglioti C., Lalle E., Castilletti C., Carletti F., Capobianchi MR. & Bordi L. (2013). Chikungunya virus infection: an overview. *New Microbiology*, 36(3), 211-227.
- Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades. CENAPRECE. (2014)Prevención, diagnóstico y tratamiento de la infección por el virus Chikungunya. Recuperado de: [http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/ChikungunyaCENETEC\\_GER.pdf](http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/ChikungunyaCENETEC_GER.pdf)

Central Disease Control. CDC. (2015). Surveillance and Control of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the United States. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/chikungunya/pdfs/surveillance-and-control-of-aedes-aegypti-and-aedes-albopictus-us.pdf>.

Díaz-Quiñonez, J. A., Ortiz-Alcántara, J., Fragoso-Fonseca, DE., Garcés-Ayala, F., Escobar-Escamilla, N., Vázquez-Pichardo, M., ...Ramírez-González, J. E. (2015). Complete Genome Sequences of Chikungunya Virus Strains Isolated in Mexico: First Detection of Imported and Autochthonous Cases. *Genome Announcements. American Society for Microbiology*, 3(3), 1. doi: 10.1128/genomeA.00300-15.

Dirección de Epidemiología. (2016). Enfermedades Infecciosas: Fiebre Chikungunya. Guía para el equipo de salud. Ministerio de Salud de la Nación. Buenos Aires. Argentina. Pp. 11-34.

Espinosa, M., Weinberg, D., Rotela, CH., Polop, F., Abril, M., & Scavuzzo, CM. (2016). Temporal dynamics and spatial patterns of *Aedes aegypti* breeding sites, in the context of a dengue control program in Tartagal (Salta Province, Argentina). Buenos Aires, Argentina. *Revista Plos Neglected tropical diseases*, 10(5), 1-21.

Horcada, ML., Díaz-Calderón, C y Garrido, L. (2015). Fiebre Chikungunya. Manifestaciones reumáticas de una infección emergente en Europa. *Reumatología Clínica*, 11(3), 161-164.

Instituto Nacional de Estadística (INE). (2013). Caracterización Departamental Santa Rosa. Guatemala. Pp. 7-12.

Instituto de Salud Pública. (2014). Virus Chikungunya. Boletín de Laboratorio y Vigilancia. Santiago de Chile. 17:1-28.

- Kantor, IN. (2016). Dengue, Zika y Chikungunya. Buenos Aires, Argentina. *Revista Medicina* 76(2), 01-06.
- Kielian, M., Chanel-Vos, C., & Liao, M. (2010). Alphavirus entry and membrane fusion. *Viruses*, 2(4), 796-825.
- Kraemer, M. U. G., Sinka, M. E., Duda, K. A., Mylne, A., Shearer, F. M., Brady, O. J., ... Hay, S. I. (2015). The global compendium of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* occurrence. *Scientific Data*, 2 (150035).doi: 10.1038/sdata.2015.35.
- Jaller-Raad, J, Segura-Rosero, A, Vidal-Martínez, J, Parody, A, Jaller-Raad, R, Caballero-Tovar, D, ... Celedón-Andrade, L. (2016). Respuesta inmunitaria de una población del Caribe colombiano infectada con el virus Chikungunya. *Revista Colombiana de Reumatología*, 23(2), 85-91.
- Jaller-Raad, J, Sánchez-Rincones, W, Santrich-Martínez, A, Sierra-Hernández, A, Fonseca-Estrada, Y, Parody, A,... Jaller-Char, J. (2016). Caracterización clínica de sujetos infectados con virus Chikungunya, en una población del Caribe colombiano. *Revista Colombiana de Reumatología*, 23(3), 171-173
- Lokireddy, S., Vemula, S., y Vadde, R. (2008). Connective tissue metabolism in Chikungunya patients. *Virology journal*, 5(31), doi:10.1186/1743-422X-5-31
- Maguiña-Vargas, C. (2015). Fiebre de Chikungunya: Una nueva enfermedad emergente de gran impacto en la salud pública. *Revista Médica Herediana*, 26(1), 55-59.
- Mardekian, K. & Roberts, A. (2015). Diagnostic Options and Challenges for Dengue and Chikungunya Viruses. *Bio Med Research International*, 2015:1-8.
- Martínez-Fernández, L. y Torrado-Navarro, Y. (2015). Fiebre Chikungunya. *Revista Cubana de Medicina*, 4(1), 1-8.

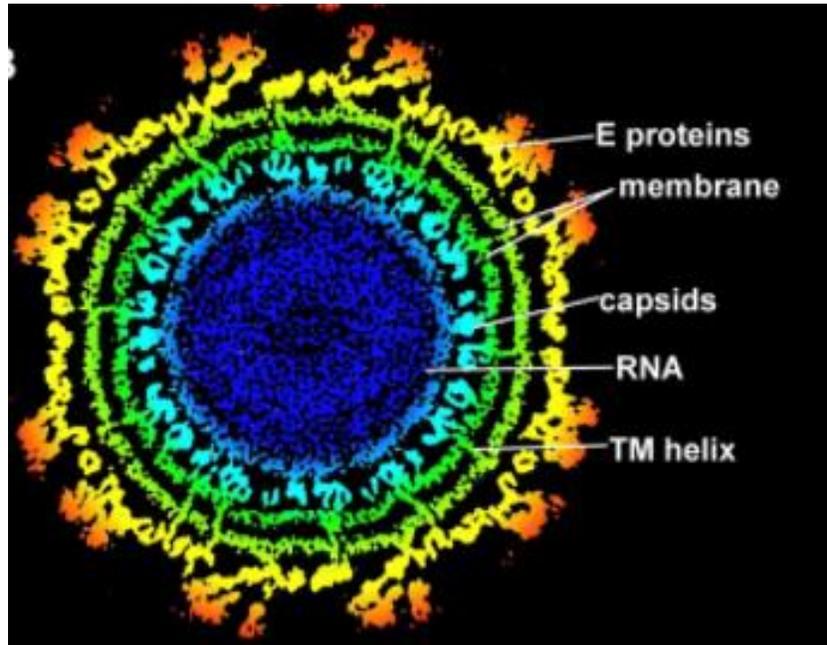
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. MSPAS. (2014). Proyecto de vigilancia comunitaria integrada. Santa Rosa, Guatemala. Pp. 5-8.
- Olano, V. (2016). *Aedes aegypti* en el área rural: implicaciones en salud pública. *Biomédica*, 36(2), 169-173. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.3374>.
- Organización Mundial de la Salud. OMS. (2017). Chikungunya. Washington, D.C. Recuperado de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/es/>.
- Organización Panamericana de la Salud. OPS. (2017). Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus Chikungunya en las Américas. Washington, D.C. Pp. 25-48.
- Ortíz, J. (2014). Guía para el manejo del virus del Chikungunya. Instituto Guatemalteco de Seguridad Social Subgerencia de Prestaciones en Salud. Departamento de Medicina Preventiva Sección de Epidemiología. Guatemala. Pp. 10-17.
- Palacios-Martínez, D., Díaz-Alonso, R, Arce-Segura, L y Díaz-Vera, E (2015). Chikungunya, una enfermedad vírica emergente. Propuesta de un algoritmo de manejo clínico. España. *Editorial Elsevier*, 41(4), 221-225.
- Pérez-Sánchez, G., Ramírez-Álvarez, G., Pérez-Gijón, Y. y Canela-Lluch, C. (2014). Fiebre de Chikungunya: enfermedad infrecuente como emergencia médica en Cuba. Santiago de Cuba, Cuba. *Revista Medisan*, 18(6), 859.
- Porta, L. (2012). Fiebre Chikungunya: Amenaza para la Región de las Américas. *Revista Salud Militar*, 31(1), 5-31.
- Restrepo-Jaramillo, BN. (2014). Infección por el virus del Chikungunya. Medellín, Colombia. *Revista Universidad CES*, 28(2), 313-323.

- Ritacco, M. (2015). Chikungunya y sus vectores. Buenos Aires, Argentina. *Revista IntraMedJournal*, 4(2), 1-7.
- Rocha, R., Lozano, P. y Martínez, Y. (2005). *Modelos de la Patogénesis de las Enfermedades Infecciosas*. Puebla, México: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Pp. 11-13.
- Secretaria de Planificación y Programación de la Presidencia. (2010). Plan de desarrollo Chiquimulilla, Santa Rosa. Chiquimulilla, Santa Rosa, Guatemala, Centro América. *I*(1), 5-97.
- Staples, R., Breiman, A. & Powers, L. (2009). Chikungunya fever: An epidemiological review of a re-emergin infectious disease. *Clinical Infectology Disease*, 49(6), 942-948.
- Sun, S, Xiang, Ye, Akahata, W, Holdaway, H, Pal, Pankaj, Zhang, X,...Rossmann, MG. (2013). Structural analyses at pseudo atomic resolution of Chikungunya virus and antibodies show mechanism of neutralization. *Biophysics and structural biology*. [doi:10.7554/eLife.00435.003](https://doi.org/10.7554/eLife.00435.003)
- Tineo, A. y Mier, M. (2014). Chikungunya en investigación. Recuperado de: <https://periodismo3ucab.wordpress.com/2014/11/28/chikungunya-en-incubacion-2/>
- Van Duijl-Richter, M, Hoornweg, T, Rodenhuis, I & Smit, J. (2015) Early Events in Chikungunya Virus infection from virus cell binding to membrane fusion. *US National Library of Medicine National Institutes of Health*, 7(7), 3647–3674.
- Wayne, D. (2002). *Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 4<sup>a</sup> Edición. Editorial Limusa Wiley. México DF. Pp. 57

Weaver, S & Lecuit, M. (2015).Chikungunya virus and the global spread of a Mosquito-Borne disease. *New England Journal of Medicine*. Pp.372-1231.

## XII. ANEXOS

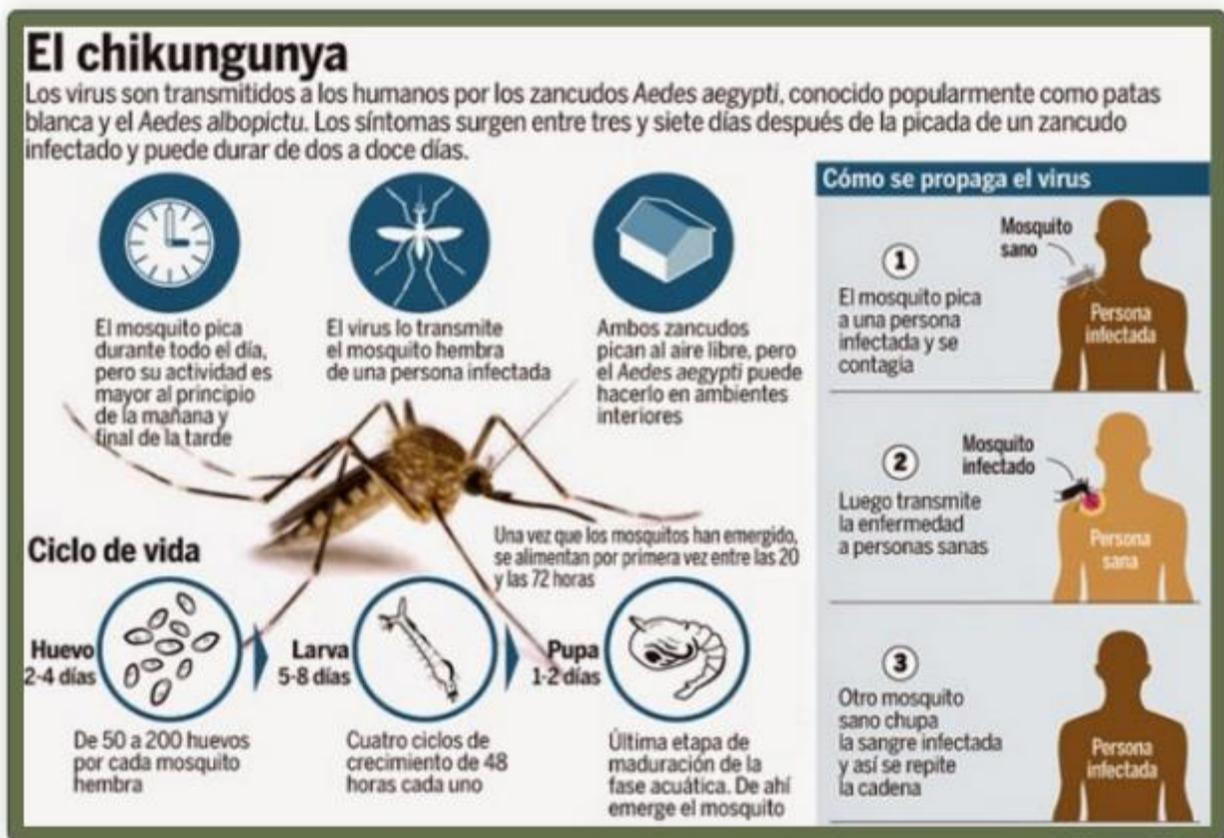
### Anexo 1. Sección transversal del virus.



La glicoproteína E1 participa en la fusión celular, mientras que la glicoproteína E2 se une a los receptores celulares. Esta estructura icosaédrica engloba una membrana lipídica, donde se anclan las proteínas exteriores. Dentro de la membrana, se encuentra la cápside que envuelve al genoma, compuesta por otra proteína muy distinta a las anteriores capaz de interactuar con el genoma de ARN y formar también pentámeros y hexámeros.

Fuente: Sun, S, Xiang, Ye, Akahata, W, Holdaway, H, Pal, Pankaj, Zhang, X,...Rossmann, MG. (2013). Structural analyses at pseudo atomic resolution of Chikungunya virus and antibodies show mechanism of neutralization. *Biophysics and structuralbiology*.[doi:10.7554/eLife.00435.003](https://doi.org/10.7554/eLife.00435.003)

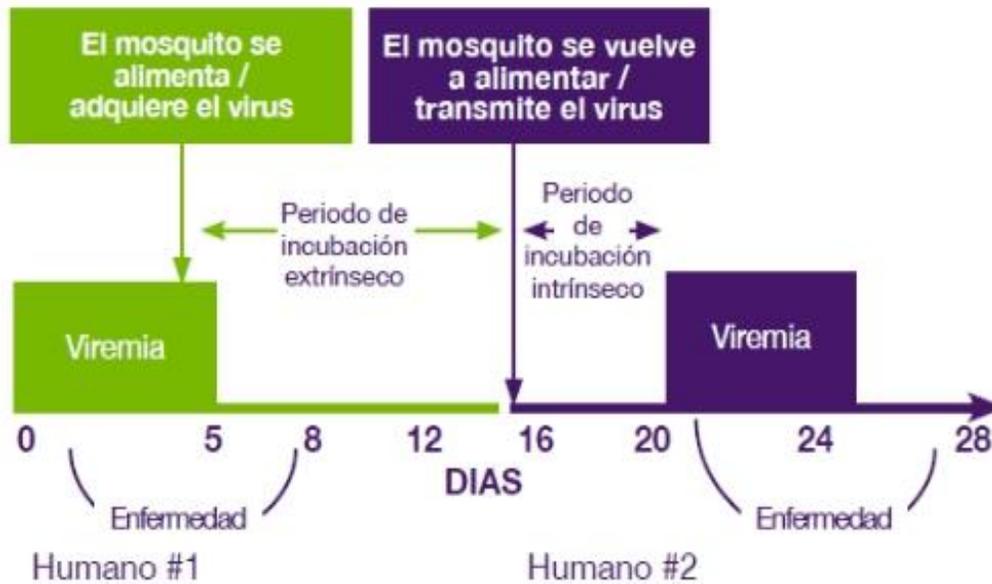
## Anexo 2. Manifestaciones y ciclo biológico del Chikungunya.



Se muestra el ciclo biológico del mosquito vector, los tiempos y los estadios por los que pasan los mosquitos, además de los síntomas más frecuentes que se presentan en los pacientes y las formas de prevención. Extraído mayo 2016.

Fuente: Arce, S. y Núñez, F. (2014). Chikungunya: Una nueva lucha comienza. *Artrópodos y salud*. México, Vol I (2) Pp.8

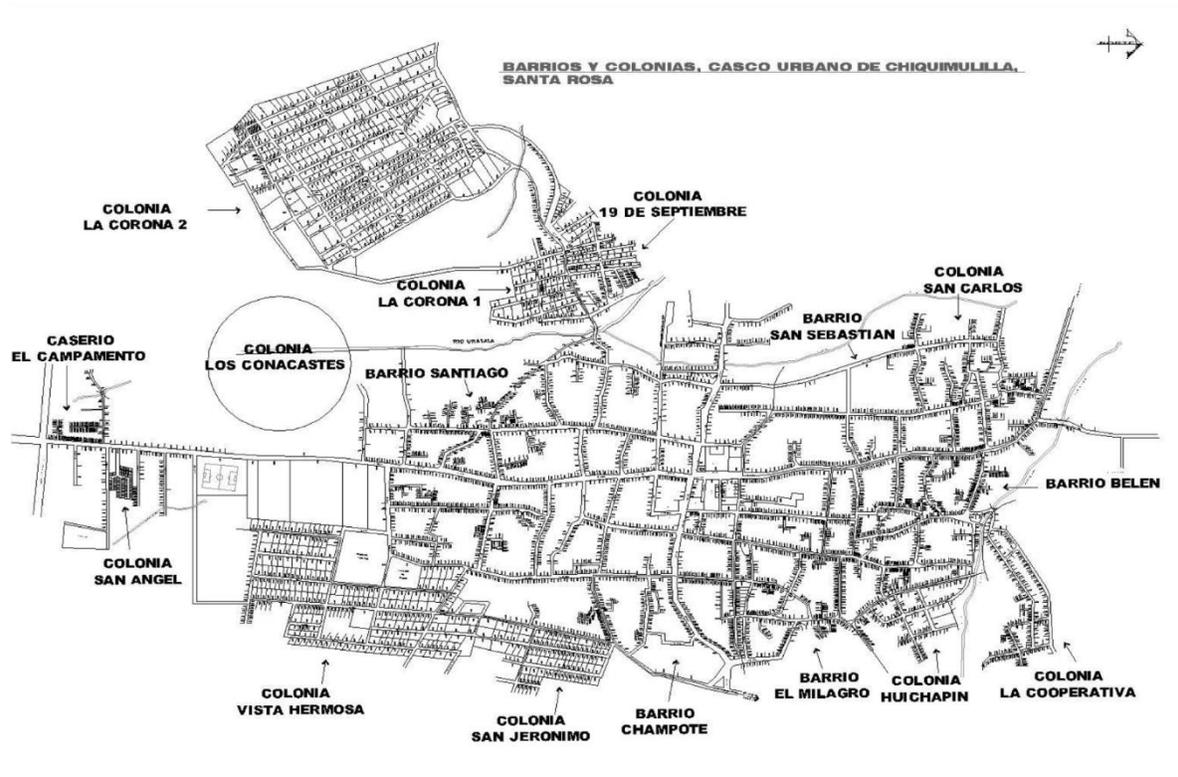
Anexo3. Vías de transmisión del virus Chikungunya.



Las diferentes vías de transmisión pueden ser: extrínseca e intrínseca. La vía extrínseca producida en el vector, en la cual el mosquito se infecta, se produce una viremia en aproximadamente 10 días, donde el virus es capaz de migrar a las glándulas salivales del vector. La vía intrínseca producida en el humano, tiene una duración promedio de 3 a 7 días en el cual puede presentar síntomas clínicos o no.

Fuente: Organización Panamericana de la Salud. OPS. (2017). *Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus Chikungunya en las Américas*. Washington, D.C. Pp. 25-48

#### Anexo 4. Croquis Municipio Chiquimulilla, Santa Rosa.

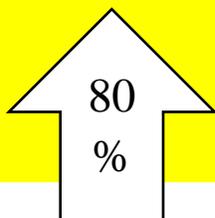


Fuente: Taracena, J. (2010). Módulo Pedagógico sobre Métodos Silvopastoriles dirigido a Docentes y Estudiantes de Sexto Grado de la Escuela Rural Mixta, Cantón el Milagro, Chiquimulilla, Santa Rosa. (tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

Anexo 5. Casos Reportados del Chikungunya en la semana epidemiológica de la 1 a la 19, Guatemala 2014-2015.

**Casos y tasas acumulados Semana epidemiológica 1-19, Tasa por cada 100,000 habitantes, Guatemala 2014-2015**

ÁREA DE SALUD	CASOS DE LAS ÚLTIMAS CINCO SEMANAS		2015	
	CASOS	MEDIANA	CASOS	TASAS
Santa Rosa	381	65	1679	447.73
Zacapa	109	23	1005	424.81
Retalhuleu	47	5	629	189.00
Izabal	100	23	607	133.12
El Progreso	34	8	194	114.60
Quetzaltenango	250	53	775	89.73
Chiquimula	86	13	220	54.13
Suchitepéquez	42	6	211	37.11
San Marcos	160	29	415	37.00
Escuintla	16	3	231	30.35
Petén Sur-Oriental	39	6	52	21.12
Petén Norte	1	0	39	17.04
Guatemala Sur	36	7	68	6.61
Jutiapa	25	2	31	6.56
Guatemala Central	32	6	57	5.73
Guatemala Nor Oriente	16	2	24	4.72
Ixcán	0	0	2	1.81
Alta Verapaz	9	0	16	1.27
Petén Sur Occidental	0	0	3	1.15
Guatemala Nor Occidente	2	2	8	0.97
Baja Verapaz	0	0	2	0.67
Huehuetenango	1	1	4	0.32
Sacatepéquez	0	0	1	0.29
El Quiché	0	0	2	0.25
Sololá	0	0	1	0.20
Chimaltenango	0	0	1	0.15
<b>Total País</b>	<b>1386</b>	<b>255</b>	<b>6277</b>	<b>38.81</b>



De los casos acumulados de Chikungunya reportados por las áreas de salud, durante las diecinueve semanas epidemiológicas del año 2015, se identifica tasa una de 38.81 por 100,000 habitantes lo que hace un total de 6,277 habitantes reportados por las áreas de salud, además se observa los casos acumulados durante estas semanas epidemiológicas sumando 1386 casos, con una mediana de 255 casos; siete áreas de salud se encuentran sobre la media nacional y se ubica el 80% del total de casos del país. Fuente: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Centro Nacional de Epidemiología, semana Epidemiológica 19. 2015. Recuperado de <http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/SEMEPI2015/SEMEPI-19.pdf>

Anexo 6. Consentimiento informado utilizado en la recolección de datos y muestras dentro del estudio

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



### **Consentimiento Informado**

Por este medio se le informa que acepta participar en el estudio “CONFIRMACIÓN DEL ANÁLISIS SEROLÓGICO DE IgG EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON EL VIRUS DE *Chikungunya* POR CLÍNICA EN UNA POBLACIÓN DE CHIQUIMULILLA, SANTA ROSA”, cuyos objetivos principales son:

1. Determinar la presencia de IgG para *Chikungunya* en pacientes con diagnóstico clínico positivo en una población de Chiquimulilla, Santa Rosa
2. Informar a la población de Chiquimulilla, Santa Rosa, sobre el impacto del virus de *Chikungunya* y su prevención.
3. Determinar las secuelas presentes en los pacientes confirmados por clínica y serología.
4. Evaluar los posibles factores de riesgo vinculados al virus de *Chikungunya* en una población de Chiquimulilla, Santa Rosa.

Le hacemos saber además que su participación en este estudio es voluntaria sin que medie coerción o fuerza. Darle a conocer que tiene el derecho de dar por finalizada la entrevista y el estudio, 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 una muestra de sangre. Es preciso que usted esté enterado sobre los beneficios que este estudio le traerá, los cuales se representan nuestros objetivos anteriormente mencionados. 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 revelará su identidad. Si usted tuviera alguna duda o pregunta adicional sobre este estudio, puede llamar Ana Ovando 5712-1496. Los resultados de los exámenes realizados se estarán proporcionando en 30 días luego de la toma de muestra. Si en dado caso usted presenta la infección por el virus de *Chikungunya*, se le remitirá con el médico para que le proporcione la atención que el considere necesaria

**Nombre y Firma de aceptación**



### Información de laboratorio

Examen de muestras de sangre para la detección de infección por CHIKV:

Fecha de recolección \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

Serología – IgMSi  No

Resultado: positiv  Negativ  fecha de resultados \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

Serología – IgGSi  No

Resultado: positiv  Negativ  fecha de resultados \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

RT-PCR  No

Resultado: positiv  Negativ  fecha de resultados \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

Aislamiento S  No

Resultado: positiv  Negativ  fecha de resultados \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

### Información epidemiológica

Antecedentes de viajes en los 30 días previos al inicio de los síntomas: SiNo

En caso afirmativo, ¿dónde? : País \_\_\_\_\_

Ciudad \_\_\_\_\_

Lugar de residencia:

Comunidad \_\_\_\_\_

Localidad \_\_\_\_\_

Recibió sangre o derivados de sangre en los 30 días previos al inicio de los síntomas

SiNo

### Clasificación final:

Descartado: |\_\_|

Confirmado: |\_\_|

Sospechoso: |\_\_|

Fecha de notificación: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

Nombre de la persona que reporta: \_\_\_\_\_

Anexo 8. Boleta de resultados de la Prueba en ELISA Virus Chikungunya IgG

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



**BOLETA DE RESULTADOS**  
**Examen en ELISA Chikungunya IgG**

Nombre: \_\_\_\_\_

Código de Paciente: \_\_\_\_\_

Lugar: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

<b>Anticuerpo</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Resultado</b>
IgG		

Interpretación de los resultados:

- IgG Reactivo: Indica infección previa con el virus del Chikungunya.

\_\_\_\_\_  
Investigador Responsable

Anexo 9. Reporte de investigación entregado a las autoridades de Chiquimulilla, Santa Rosa.



Dr. Manuel Martínez  
Director Área de Salud Cuilapa, Santa Rosa  
Presente

**REPORTE DE LA “CONFIRMACIÓN DEL ANÁLISIS SEROLÓGICO DE IgG EN PACIENTES DIAGNÓSTICADOS CON EL VIRUS DEL CHIKUNGUNYA POR CLÍNICA EN UNA POBLACIÓN DE CHIQUIMULILLA, SANTA ROSA”.**

La fiebre de Chikungunya es una forma rara de fiebre viral, poco estudiada, causada por un Alphavirus y es transmitida por la picadura de la hembra del mosquito *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus*. En Guatemala la mayoría de laboratorios a nivel nacional y regional no cuentan con tecnologías aprobadas para su diagnóstico y éste se basa únicamente en pruebas rápidas o en el diagnóstico clínico.

Esta investigación tuvo como objetivo confirmar el diagnóstico clínico y el análisis serológico mediante la determinación de IgG para el virus de Chikungunya en una población de Chiquimulilla, Santa Rosa, para el efecto se realizó la determinación de la concentración de anticuerpos IgG por medio de una prueba de ELISA en los pacientes reportados con cuadro clínico positivo. Se muestreó un total de 139 pacientes seleccionados al azar por medio de la base de datos proporcionada por el Área de Salud de Cuilapa, Santa Rosa. Del total de 139 paciente, 87 fueron positivos para la presencia de IgG (62.59%), mientras que 52 fueron negativos para la presencia de IgG (37.41%). Se adjunta listado de los resultados obtenidos en los pacientes evaluados.

Se concluyó que el diagnóstico clínico para el virus del Chikungunya se confirma con el diagnóstico de laboratorio al determinar la presencia de anticuerpo IgG específicos para el virus generando un diagnóstico confirmatorio para la infección.

El manejo de una cuidadosa historia clínica, una adecuada interpretación de la misma y la necesidad inminente de exámenes de laboratorio para confirmar un diagnóstico, hacen necesaria la integración global de los entes proveedores de salud.

Por lo que se exhorta a todos los entes proveedores de salud, a continuar con el fortalecimiento de la vigilancia epidemiológica, a hacer uso de las herramientas de laboratorio y evitar la propagación y transmisión de enfermedades vectoriales en la región.

Br. Luz Andrea Vásquez Bárcenas  
Seminarista

Mtra. Ana Gabriela Ovando Salazar  
Seminarista

Anexo 10. Resultados de pacientes evaluados en una población de Chiquimulilla,  
Santa Rosa

CÓDIGO	NOMBRE	RESULTADO	PROCEDENCIA
23071601	SVVM	No Reactivo	Rural
23071602	DSMS	No Reactivo	Urbano
23071603	HH	No Reactivo	Rural
23071604	ADAM	Reactivo	Urbano
23071605	DAJP	No Reactivo	Rural
23071606	RMMS	No Reactivo	Urbano
23071607	MVP	No Reactivo	Rural
23071608	SH	No Reactivo	Urbano
23071609	RM	Reactivo	Urbano
23071610	MHF	Reactivo	Urbano
23071611	SLF	Reactivo	Urbano
23071612	RAM	Reactivo	Urbano
23071613	RERD	No Reactivo	Urbano
23071614	RPP	Reactivo	Urbano
23071615	FAM	No Reactivo	Rural
23071616	IB	Reactivo	Urbano
23071617	MLPV	Reactivo	Urbano
23071618	MVP	No Reactivo	Urbano
23071619	LDJFC	No Reactivo	Urbano
23071620	AGM	No Reactivo	Rural
23071621	MLPL	No Reactivo	Urbano
23071622	MACV	No Reactivo	Urbano
23071623	HMV	Reactivo	Urbano
23071624	EAL	No Reactivo	Urbano
23071625	BGEH	No Reactivo	Urbano
23071626	CG	Reactivo	Rural
23071627	LDJLR	Reactivo	Urbano
23071628	JRJO	Reactivo	Urbano
23071629	SAVA	No Reactivo	Rural
23071630	JCMG	Reactivo	Rural
23071631	GGC	Reactivo	Urbano
23071632	FRS	No Reactivo	Urbano
23071633	JEH	Reactivo	Urbano
23071634	PJ	No Reactivo	Urbano

23071635	JCL	No Reactivo	Rural
23071636	RG	No Reactivo	Rural
23071637	DCJM	Reactivo	Rural
23071638	AMJM	No Reactivo	Urbano
23071639	MHMH	Reactivo	Urbano
23071640	ACJV	Reactivo	Urbano
23071641	MEMV	No Reactivo	Urbano
23071642	AEH	Reactivo	Urbano
23071643	ML	No Reactivo	Urbano
23071644	SRQ	No Reactivo	Urbano
23071645	CHGL	Reactivo	Urbano
23071646	AIGF	No Reactivo	Urbano
23071647	MSM	No Reactivo	Urbano
23071648	CHR	No Reactivo	Rural
23071649	MAC	No Reactivo	Urbano
23071650	DLGP	Reactivo	Rural
23071651	RS	Reactivo	Urbano
23071652	IEL	Reactivo	Urbano
23071653	MM	Reactivo	Urbano
23071654	RCVG	Reactivo	Urbano
23071655	BMS	Reactivo	Urbano
23071656	CP	No Reactivo	Rural
23071657	AM	Reactivo	Rural
23071658	EV	Reactivo	Rural
23071659	TDJM	Reactivo	Rural
23071660	AH	No Reactivo	Urbano
23071661	MFA	Reactivo	Urbano
23071662	EMMM	No Reactivo	Urbano
23071663	JRVM	No Reactivo	Urbano
23071664	JJCD	No Reactivo	Rural
23071665	OMG	Reactivo	Urbano
23071666	LOTH	No Reactivo	Urbano
23071667	MLV	Reactivo	Urbano
23071668	GDV	Reactivo	Urbano
23071669	EGM	Reactivo	Rural
23071670	SG	Reactivo	Urbano
23071671	MOG	No Reactivo	Urbano
23071672	KVVM	No Reactivo	Rural

23071673	BMTA	No Reactivo	Rural
23071674	JJMM	No Reactivo	Urbano
23071675	MES	Reactivo	Urbano
23071676	RGVM	No Reactivo	Urbano
23071677	SVM	No Reactivo	Urbano
23071678	EF	Reactivo	Urbano
23071679	BIRG	Reactivo	Urbano
23071680	MSC	Reactivo	Rural
23071681	MRVP	Reactivo	Rural
23071682	EROL	Reactivo	Urbano
23071683	MPGH	Reactivo	Urbano
23071684	RLG	Reactivo	Rural
23071685	SJPHM	No Reactivo	Rural
23071686	HSMR	No Reactivo	Rural
23071687	JC	No Reactivo	Urbano
23071688	AMGD	Reactivo	Urbano
23071689	MAH	Reactivo	Urbano
23071690	LEH	Reactivo	Urbano
23071691	MCF	Reactivo	Rural
23071692	MEP	Reactivo	Rural
23071693	PAOP	Reactivo	Rural
23071694	GRR	Reactivo	Rural
23071695	DJJ	No Reactivo	Urbano
23071696	KJGG	Reactivo	Urbano
23071697	MGG	Reactivo	Urbano
23071698	EEGR	Reactivo	Urbano
23071699	CO	Reactivo	Urbano
230716100	AFZA	No Reactivo	Rural
230716101	HSL	No Reactivo	Rural
230716102	MNP	Reactivo	Urbano
230716103	SS	No Reactivo	Rural
230716104	JS	Reactivo	Urbano
230716105	JM	Reactivo	Urbano
230716106	JMG	Reactivo	Urbano
230716107	AG	Reactivo	Urbano
230716108	JM	Reactivo	Urbano
230716109	JICP	Reactivo	Rural
230716110	LP	Reactivo	Rural

230716111	MAB	Reactivo	Rural
230716112	LBM	Reactivo	Urbano
230716113	MAC	No Reactivo	Rural
230716114	MRR	Reactivo	Rural
230716115	VGD	Reactivo	Rural
230716116	CGD	Reactivo	Rural
230716117	RPA	No Reactivo	Rural
230716118	ERGC	Reactivo	Rural
230716119	BEM	Reactivo	Rural
230716120	MLCG	Reactivo	Urbano
230716121	ICLM	Reactivo	Urbano
230716122	MAGG	Reactivo	Rural
230716123	JHGM	Reactivo	Rural
230716124	EGG	No Reactivo	Rural
230716125	MEMC	Reactivo	Urbano
230716126	RH	Reactivo	Urbano
230716127	CM	Reactivo	Rural
230716128	MM	Reactivo	Urbano
230716129	ENA	Reactivo	Urbano
230716130	MJL	Reactivo	Rural
230716131	CMMM	Reactivo	Rural
230716132	HLMP	Reactivo	Urbano
230716133	GJ	Reactivo	Urbano
230716134	MJGD	Reactivo	Urbano
230716135	FCG	Reactivo	Rural
230716136	LHR	Reactivo	Rural
230716137	MCG	Reactivo	Rural
230716138	OYPH	No Reactivo	Rural
230716139	JAH	Reactivo	Rural

Br. Luz Andrea Vásquez Bárcenas

**Autora**

Mtra. Ana Gabriela Ovando Salazar

**Autora**

M.A. Isabel Cristina Gaitán Fernández

**Asesora**

Lic. Carlos Enrique Rodas Estrada

**CoAsesor**

M.A. Ana Margarita Paz Morales

**Revisora**

Msc. Alba Marina Valdés de García

**Directora**

**Escuela Química Biológica**

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

**Decano**

**Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**