

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA**

**UNAN – LEÓN**

**Facultad de Ciencias Médicas**

**Bioanálisis Clínico**



*Prevalencia de anticuerpos IgG contra virus del Dengue en una población sana del área de Salud Perla Maria Norori del SILAIS-León en el período de Agosto 2006- Marzo 2007.*

Trabajo Monográfico para optar al título de  
Licenciatura en Bioanálisis Clínico

Autora:

Br. Eliana María Espinoza Torres

Tutor: Lic. Orlando Mayorga. MSc.

Dep. Microbiología y Parasitología

Facultad de Ciencias Médicas-UNAN-León



León, Nicaragua 2009

Resumen

El dengue continúa siendo una de las enfermedades de mayor incidencia, en donde los cuatro serotipos del dengue han circulado desde 1985 en el país, siendo causa importante de morbi-mortalidad. La seroprevalencia real de dengue en la ciudad de León aún se desconoce, a pesar de ser una zona de alta incidencia de dengue. Con el objetivo de conocer la magnitud de la seroprevalencia de dengue en esta región se realizó un estudio en una población sana mayor de 2 años de edad del área de salud Perla Norori de la ciudad de León, con el objetivo de determinar la presencia de anticuerpos IgG anti-dengue utilizando el método de ELISA. Encontrando una seroprevalencia global para dengue de 92%, con una seropositividad en el grupo de 2-5 años de 56% presentando una pendiente de aumento hasta un 95% en el siguiente grupo de edad, hasta llegar a un máximo de 99% en la edad adulta. Un análisis de correspondencia mostró que los niños tienden más a la seronegatividad. Los resultados indican una alta seroprevalencia en todas las edades y una transmisión intensa y sostenida del dengue en esta ciudad, lo que establece un riesgo potencial de una epidemia de dengue hemorrágico en esta población.

### **Introducción**

Por más de 20 años, la fiebre por dengue y el dengue hemorrágico se han expandido a través de toda Latinoamérica. En Nicaragua, el dengue se ha considerado como uno de los principales problemas de salud pública, donde periódicas epidemias afectan a miles de personas, y cientos de casos son reportados cada año en este país, particularmente en épocas de lluvia cuando la densidad del mosquito vector aumenta.(GUBBLER 1998)

En 1985 se declara la primera epidemia de dengue en Nicaragua, donde fueron reportados más de 17.000 casos de dengue, y siete pacientes diagnosticados con dengue hemorrágico murieron, aislándose los serotipos DEN-1 y DEN-2. Luego un segundo brote de dengue en 1990 causó más de 4.000 casos de dengue con la introducción del serotipo DEN-4, cuya cifra aumentó a más de 4.000 casos en el brote de 1992; la mayoría de estos casos de la ciudad de León, donde se aislaron los serotipos DEN-2 y DEN-4. (OCHOA, 1998)

Para Julio de 1994 un nuevo aumento en el número de casos de dengue y dengue hemorrágico se hizo discernible en León, un total de 1.680 casos de dengue se reportaron en esta ciudad ese mes, y a finales de ese año ya habían sido reportados un total de 20.469 casos de dengue, es durante este brote que se da la reaparición del serotipo DEN-3 en Nicaragua, el cual no había sido reportado en América desde 1981. (GUZMAN et al, 1994)

En la ciudad de Managua, con el fin de averiguar la prevalencia de anticuerpos contra el virus del dengue, se llevó a cabo un estudio de dos años (2001 y 2002) en niños, encontrando una seroprevalencia total de anticuerpos del 91% y una alta transmisión de virus del dengue en áreas urbanas del país (BALMASEDA et al 2006). El departamento de León, hasta hoy, ha sido fuertemente azotado por el virus del dengue, no sólo por presentar el mayor número de casos reportados, sino por ser uno de los departamentos donde han circulado los cuatros serotipos del dengue, indicando un mayor riesgo de desarrollar dengue hemorrágico. Es por esto, y el hecho que algunas de las infecciones por dengue son asintomáticas, y la mayoría de las infecciones primarias son sub-diagnosticadas o peor aún no diagnosticadas, que este estudio pretende determinar la prevalencia real de esta infección en una de las áreas de salud del municipio de León, que permita valorar la situación epidemiológica de riesgo de esta población para desarrollar dengue hemorrágico.

### **Planteamiento del Problema**

En Nicaragua el dengue continúa siendo un problema de salud pública ampliamente distribuido en el territorio nacional, desde 1985 ha reportado dengue endémico y los cuatro serotipos del dengue han circulado por el país. Una primera infección con uno de los serotipos del dengue proporciona inmunidad para toda la vida, pero solamente contra ese serotipo infectante no así, contra los demás serotipos del virus, es por esta razón que una segunda exposición con un serotipo distinto es un factor de riesgo para desarrollar las formas más graves del dengue, el dengue hemorrágico y el síndrome de shock por dengue, ambas pueden ser fatales.

La ciudad de León ha sido una región de alta incidencia de dengue desde los primeros brotes en el país, sin embargo se desconoce la seroprevalencia real de dengue basada en estudios de laboratorio que nos indiquen exposiciones previas al virus en habitantes sanos de esta región. Por esta razón se plantea la siguiente interrogante: ¿Cuál es la prevalencia de anticuerpos IgG anti-dengue en el área de salud del Perla María Norori del municipio de León en el período de Agosto 2006 - Marzo 2007?

**Objetivo**

Determinar la prevalencia de anticuerpos IgG anti-dengue en los pobladores del área de salud Perla María Norori del municipio de León en el período de Agosto 2006-Marzo 2007.

### **Justificación**

Los estudios realizados en nuestro país dirigidos a conocer el estado inmune de la población respecto al virus del dengue son pocos, y aunque estudios epidemiológicos anteriores demuestran que la mayoría de los pacientes que se presentan en los hospitales y centros de salud en nuestro país son causa de infecciones secundarias por dengue, no se tiene información de la prevalencia de la infección previa por dengue basada en estudios de laboratorio, cuando se sabe que uno de los factores importantes que predispone a la población a desarrollar un dengue hemorrágico o un síndrome de shock por dengue es la reinfección con uno de los cuatro serotipos del virus.

Es por esta razón que el presente trabajo pretende principalmente determinar la seroprevalencia del dengue en una población sana mayor de 2 años de edad en un área de salud del municipio de León, cifras que nos van a permitir valorar el riesgo de esta población a contraer un dengue hemorrágico y así, poder contribuir a que el sistema de salud del país puedan implementar nuevas estrategias de salud públicas dirigidas a prevenir nuevos casos de dengue en nuestro territorio.

### **Marco Teórico**

La fiebre del dengue es la más importante enfermedad viral de humanos, y constituye un gran problema de salud pública en regiones tropicales y subtropicales. El dengue es una enfermedad vectorial provocada por el virus del mismo nombre y transmitida por el mosquito *Aedes aegypti*. Clínicamente se describe como una enfermedad febril aguda caracterizada por cefalea frontal, dolor retro-orbitario, dolor de músculos y articulaciones, erupción, y puede expresarse de diferentes formas clínicas. (ITURRINO et al 2006)

#### Vectores y Reservorios

Los vectores del dengue son los mosquitos del género *Aedes*, y la especie más importante en la transmisión es *Aedes aegypti*. Otro vector de importancia epidemiológica es *Aedes albopictus*, de gran distribución en Brasil. Este vector es el que mantiene la enfermedad en Asia y ha sido introducido en América difundiendo en varios países. Ambos vectores pertenecen al subgénero *Stegomyia*.( ITURRINO et al 2006)

*Aedes aegyptis* son artrópodos de la clase *insecta*, orden *díptera*, familia *Culicidae* y subfamilia *Culcinae*, que incluye los géneros *Aedes* y *Culex*. Los huevos de *Aedes* y *Culex* no presentan flotadores característicos de la subfamilia *Anophelinae*, (transmisores de la malaria), los huevos de *Aedes* son depositados individualmente, en cambio los huevos de *Culex* en grupos flotantes. Las larvas de estos géneros cuelgan suspendidas oblicuamente de la superficie del agua y no paralelas como las de *Anofelinos*. El adulto de *Aedes aegypti*, tiene un dorso con bandas de color plateado o amarillo blanquecino sobre fondo oscuro, y un dibujo característico en forma de lira en el dorso del tórax. Las patas están conspicuamente bandeadas y el último artejo de las patas posteriores es blanco. El abdomen de la hembra tiende a ser puntiagudo. (CHIPARELLI et al, ITURRINO et al 2006, RAZETTI et al 2004)

Los adultos pierden actividad por desecación o por debajo de 12-14 °C, vuelan pocos metros y pican con mayor actividad dos horas después de la puesta del sol y dos antes del amanecer, en la vivienda junto a la que nacen. Cada hembra deposita pocos huevos, los cuales pueden soportar la desecación durante un año y eclosionar tras unos 4 días de humedad. El ciclo completo de *A. aegypti*, de huevo a adulto, se completa en óptimas condiciones de temperatura y alimentación, en 10 días. La fuente de infección y el reservorio vertebrado es el hombre. (ITURRINO et al 2006 y RAZETTI et al 2004)

### Ciclo de vida del *Aedes aegypti*.

El virus del dengue persiste en la naturaleza gracias al ciclo de transmisión hombre-*Aedes aegypti*- hombre. La magnitud actual del problema de *A. aegypti* es mucho mayor, en términos de extensión, urbanización, volumen, y unidades de agua almacenada a cielo abierto y contaminada. Todas las poblaciones del mosquito en América son resistentes al DDT y algunas los son a temefós, malathión y piretroides. Secundariamente contribuyen otros fenómenos:

- La replicación del virus en el tracto genital del vector hace que aquel pueda incorporarse a los huevos y la progenie.
- Se puede producir transmisión sexual de machos infectados a hembras.
- Existen ciclos selváticos de infección, que pueden involucrar a monos y contribuir, en escala menor, al mantenimiento y la transmisión del virus, junto con el ciclo horizontal principal hombre-mosquito-hombre. (ITURRINO et al 2006 y RAZETTI et al 2004)

### Modo de Transmisión

La transmisión se da por la picadura de mosquitos infectantes, principalmente *A. aegypti*. Las dos especies *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* son vectores eficaces que a menudo están en el medio urbano. No hay transmisión por contacto directo con una persona enferma, sus secreciones, ni por contacto con fuente de agua o alimentos. Se transmiten por la picadura del mosquito hembra infectada. Las hembras se infectan cuando se alimentan de

sangre contaminada, cuyas proteínas requieren para el desarrollo de los huevos. Los enfermos suelen infectar a los mosquitos desde el día anterior hasta el final del período febril que es, en promedio, de unos cinco días. El mosquito se vuelve infectante de 8-12 días después de alimentarse con sangre, y así continúa durante toda su vida (BALMASEDA 2006, CHIPARELLI et al).

### Agente etiológico

El agente causal es un virus que pertenece a la familia *Flaviridae: arbovirus* y al género de *flavivirus*. Se trata de virus envueltos, de 40-50nm de diámetro, con cápside icosaédrica y genoma de ARN monocatenario, no segmentado, de polaridad positiva. Este opera directamente como ARN mensajero policistrónico. El virus se adhiere a las células eucariotas, ingresa a ellas por viropexis, se replica en el citoplasma y se ensambla en el retículo endoplasmático. Su genoma codifica una poliproteína que es luego procesada en 10 polipéptidos: 3 estructurales (una proteína de nucleocápside C, una membranosa prM y una glicoproteína de envoltura E: hemaglutinante y de adherencia) y 7 no estructurales, de las cuales NS1, que puede inducir como E, una respuesta inmune protectora. Se reconocen por variación de la proteína E cuatro serotipos antigénicos llamados DEN1, DEN 2, DEN 3 y DEN 4 sobre la base de ensayos de neutralización del efecto citopático. Existe heterogenicidad de cepas dentro de cada tipo, que se correlaciona con variedad de secuencia de ARN, cuya identificación en prM, E y NS1 tiene utilidad epidemiológica.

Las posibilidades de amplia variación y supervivencia de estos virus serían menores que para otros virus ARN, a causa de su estricta adaptación a hospederos diferentes. (BALMASEDA 2006, CRUZ et al 2002, CHIPARELI et al 2006)

### Mecanismos patológicos

El virus del dengue se replica en el tejido linfoide y principalmente en células fagocíticas. Los estudios en humanos con fiebre hemorrágica por dengue han demostrado la presencia

del virus en monocitos y linfocitos de sangre periférica de donde también se ha recuperado al virus.

En la actualidad, no son claros los mecanismos que desencadenan el cuadro patológico del dengue. Los estudios seroepidemiológicos llevados a cabo principalmente en Tailandia, han sugerido que existe una fuerte asociación entre las infecciones secundarias heterólogas y las formas severas de la enfermedad; en algunas circunstancias el riesgo relativo de desarrollar fiebre hemorrágica por dengue y síndrome de shock por dengue (FHD/SSD) es más alto en aquellos niños que tienen infecciones secundarias, que en aquellos con infecciones primarias. Se ha sugerido que la patogénesis de la FHD/SCD ocurre, sobre todo, mediante la eliminación inmune de células infectadas y que este evento ocurre más rápidamente en infecciones secundarias. Existen evidencias de que la mayoría de los componentes de la respuesta inmune puede participar en este fenómeno. HALSTEAD y colaboradores propusieron que los anticuerpos preexistentes contra un serotipo pueden facilitar la replicación de un segundo virus diferente (infección secundaria heteróloga o secuencial).

Esta hipótesis de la “facilitación inmunológica mediada por anticuerpo” sostiene que los complejos virus-anticuerpos son internalizados por macrófagos –célula donde el virus se replica- mediante receptores Fc que se encuentran en la membrana. Los virus infectan a un mayor número de célula, las cuales pueden ser destruidas por efecto de la infección, o mediante mecanismos inmunológicos, con lo que se libera una serie de mediadores químicos que pueden iniciar o participar en la activación de la fisiopatología del FHD/SCD.

La secuencia de las infecciones parece ser un factor de riesgo importante para desencadenar el cuadro de FHD/SCD. Hay evidencias de que el fenómeno de “facilitación inmunológica mediada por anticuerpos” puede ser un factor de riesgo importante; sin embargo no todos los individuos que tienen respuesta secundaria de anticuerpos desarrollan cuadros severos cuando son infectados con un segundo serotipo. (GUZMAN. M 1994, GUZMAN. T et al 1999, OPS. Boletín Epidemiológico 2002).

Por otro lado se ha observado epidemias de FHD/SCD en infecciones primaria. Estas observaciones fueron las base de la hipótesis propuestas por *Rosen* y colaboradores para explicar los casos severos y fatales de FHD/SCD en infecciones asociadas con un solo serotipo. *Rosen* sostiene que el cuadro de FHD/SCD puede ser desencadenado por variantes del virus del dengue que tienen mayor potencial patogénico. Las altas tasas de mutación que se observan en los virus ARN son un hecho bien conocido y los virus dengue no son la excepción, por lo que es posible que variantes de algún serotipo en particular tengan una mayor virulencia capaz de iniciar la patofisiología asociada con FHD/SCD. A pesar de que la hipótesis propuesta por *Halstead* y *Rosen* han sido confirmadas por observaciones en epidemias de FHD/SCD, es razonable suponer que ambas hipótesis no son mutuamente excluyentes. (ITURRINO et al 2006, OPS. Boletín Epidemiológico 2002).

### Inmunología del dengue

Las personas que nunca han sido infectadas por un *flavivirus* o que no han sido vacunadas contra ninguna de las patologías provocadas por ellos desarrollan una respuesta primaria contra el virus, compuesta principalmente de la producción de IgM. Estos anticuerpos anti-dengue, aparecen en 50% de los pacientes durante la fase febril de la infección primaria y en la otra mitad, durante la fase de recuperación. El “pico” de producción de anticuerpos IgM ocurre alrededor de 2 semanas después de iniciados los síntomas para luego declinar a niveles no detectables durante los siguientes 2-3 meses.

La producción de anticuerpos IgG aparecen luego, brevemente. (CRUZ et al 2002, CHIPARELLI et al, OPS. Boletín Epidemiológico 2002, SALVATELLA et al, 1996).

En el caso de infecciones secundarias, con virus de serotipo diferente a la infección primaria, anticuerpos IgG de reacción cruzada (“heterotípicos” o secuenciales) son capaces de neutralizar el virus y, al contrario, aumentan el número de macrófagos infectados formando complejos anticuerpos-virus que son internalizados por las células.

Por un mecanismo independiente de los anticuerpos, las células dendríticas son infectadas precozmente por el virus. Estos fenómenos activan linfocitos T CD4+ cooperadores y T CD8+ citotóxicos (CTL) que segregan citocinas capaces, por ejemplo, de lisar los monocitos infectados. La fagocitosis por los monocitos/macrófagos y la activación celular, llevan la liberación de algunas citocinas como el TNF-alfa y el IFN-gamma. (OCHOA et al 1998, CRUZ et al 2002).

La activación del complemento y la acción de las citoquinas mencionadas, incrementan la permeabilidad capilar provocando así el fenómeno hemorrágico típico de FHD. El nivel sérico de TNF aparece asociado a la severidad de la enfermedad y sería crítico para el desarrollo de esta forma de la infección. En el caso del IFN-gamma su participación consistiría en estimular la internalización de complejos antígeno-anticuerpo y la infección por el virus de células (macrófagos/monocitos) dotadas del receptor Fc-gamma del cual aumenta su número y actividad (CHIPARELLI et al, OPS. Boletín Epidemiológico 2002).

### Ciclo de infección del dengue

Cuando un organismo se infecta por primera vez responde produciendo anticuerpos contra el virus, los cuales lo protegen de una nueva infección por el mismo. Sin embargo, estos anticuerpos no reconocen cualquiera de los otros tres virus restantes y favorecen una segunda infección. (CHIPARELLI et al, MENDEZ et al 2002).

### Factores que inciden en el desarrollo de casos de FHD/SSD

En los últimos años se ha observado en América un aumento de la circulación del virus del dengue, así como también de la incidencia de casos de FHD. Esto se atribuye a varios factores:

- El dengue es una enfermedad fundamentalmente urbana, donde el combate con el vector (principal método de control) depende de la mano de obra y existen

dificultades operacionales en las grandes ciudades cuando se intenta poner en juego un plan de control sistemático. (CHIPARELLI et al, MENDEZ 2002)

- El proceso creciente de urbanización, con el aumento de la densidad poblacional en las grandes ciudades, así como también el hecho de que muchas de estas personas viven en difíciles condiciones socioeconómicas: viviendas inadecuadas, sin agua potable y con deficientes sistemas de alcantarillado; esta situación ha favorecido la convivencia del mosquito con el ser humano. (GUZMAN, et al 1994, OPS Boletín Epidemiológico 2002, MENDEZ et al 2002).
- Los cambios en el estilo de vida de las personas contribuyen a que la población del mosquito aumente. Por ejemplo, los empaques no biodegradables y las llantas abandonadas de automóviles, así como cualquier otro lugar donde se estanque el agua, proveen abundantes criaderos potenciales del vector. (CHIPARELLI et al, MENDEZ et al 2002)
- El aumento de los viajes aéreos y del transporte, en general en los últimos 20 años, proporciona un mecanismo ideal para el traslado del virus entre los centros poblacionales.
- La re-infestación de la mayor parte de América tropical por *Aedes aegypti*, su resistencia a los insecticidas y la ausencia de una vacuna eficaz para el ser humano completan el cuadro favorable a la difusión de la infección. (CHIPARELLI et al, MENDEZ et al 2002)

### Factores de riesgos asociados con el dengue hemorrágico

#### **En relación al huésped**

- Preexistencia de anticuerpo para dengue
- Niños
- Mujeres
- Raza blanca
- Buen estado nutricional
- Diabetes

### **Epidemiológicos**

- Población susceptible
- Presencia del vector
- Alta densidad poblacional
- Período de tres meses a cinco años entre las dos infecciones por serotipos diferentes
- Secuencia habitual del Den-2 secundario a otro serotipo.

### **En relación al virus**

- Cepa de alta virulencia

### Diagnóstico de Laboratorio

El diagnóstico de laboratorio del dengue ha progresado en la última década, principalmente por el mejoramiento y la disponibilidad de técnicas serológicas, virológicas y biología molecular.

Recién se han demostrado la utilidad de la saliva para la detección de anticuerpos IgM e IgG del dengue. En muestras de saliva se han observado niveles relativamente comparables a los observados en el suero de los pacientes, además de la utilidad de la detección de anticuerpos IgA para el diagnóstico de infecciones recientes. (CHIPARELLI et al, GUZMAN et al, 1994, OPS, Boletín Epidemiológico 2002)

El virus del dengue se encuentra entre los *arbovirus* más difíciles de detectar y propagar, ya que se multiplica con facilidad en los cultivos celulares de animales de laboratorio. También pueden influir la presencia de complejos antígeno-anticuerpo (infección secundaria) en muestras clínicas mal procesadas y la poca cantidad de virus viables en el inóculo. Por estas razones se utiliza más el diagnóstico serológico que el virológico. (CHIPARELLI et al, GARCIA et al, 1997, OPS, Boletín Epidemiológico 2002).

### Aislamiento e identificación

Los métodos empleados para el aislamiento del virus son la inoculación en ratones lactantes, cultivos celulares y en mosquito. La muestra más importante para el aislamiento es el suero o el plasma obtenido durante el período febril (preferiblemente antes del 5to día de los síntomas), cuando la viremia es elevada. En los casos fatales puede ser utilizado el sobrenadante del homogenizado de tejidos frescos de necropsia, especialmente de hígado, bazo, ganglios linfáticos y timo.

La aplicación de las técnicas de cultivo celular para la detección de los virus del dengue ha permitido elevar la sensibilidad del aislamiento. Con este propósito, se han empleado líneas celulares de mamíferos: Vero (riñón de mono verde africano), BHK2 (riñón de hámster recién nacido), LLC-MK2 (riñón de mono). Las líneas celulares obtenidas a partir de mosquitos son las más sensibles y de más amplios usos para el aislamiento de estos virus. (CHIPARELLI, et al, GARCIA et al, 1997, OPS, Boletín Epidemiológico, 2002).

Cualquiera sea el sistema biológico empleado, la identificación viral puede realizarse por ensayos de Inmunofluorescencia (IF) y Neutralización por reducción del número de placas (NRNP), utilizando sueros hiperinmunes y anticuerpos monoclonales específicos de tipo. La Inmunofluorescencia, representa un método simple, económico, confiable y rápido para la identificación viral, que utiliza principalmente anticuerpos monoclonales específicos. (CHIPARELLI, et al, GARCIA et al, 1997, OPS, Boletín Epidemiológico, 2002).

### Diagnóstico Serológico

En el dengue se observan principalmente dos tipos de respuesta serológica: primaria y secundaria, la primera se presenta en aquellos individuos que no son inmunes a *flavivirus* y la respuesta secundaria se observa en aquellos individuos con una infección aguda por dengue, los que han padecido previamente una infección por *flavivirus*. La existencia de los

4 serotipos virales posibilita que se produzca incluso infecciones terciarias y cuaternarias. (CHIPARELLI et al, GUZMAN et al 1997, OPS 2002).

En individuos que sufren su primoinfección, los anticuerpos IgG anti-dengue comienzan a incrementarse lentamente a partir del 5<sup>to</sup>-6<sup>to</sup> día de comienzo de los síntomas, los cuales son máximo hacia los 15-21 días. Después declinan y permanecen detectables poco más o menos durante toda la vida. En el transcurso de una infección secundaria, los anticuerpos IgG se elevan casi al mismo tiempo del comienzo de los síntomas; permanecen elevados durante varias semanas y luego van declinando. Esta elevación significativa permite el diagnóstico presuntivo en monosueros tomados durante la fase aguda de la enfermedad. (CHIPARELLI et al, GUZMAN et al 1997, OPS 2002).

Los anticuerpos IgM anti-dengue que se producen en respuesta a la infección se desarrollan rápidamente y hacia el 5<sup>to</sup> día de la enfermedad la mayoría de los individuos presentan cantidades detectables. En general, estos anticuerpos IgM declinan hacia niveles no detectables entre los 30-90 días de comienzo de los síntomas. En general, los anticuerpos IgM muestran algún grado de reactividad cruzada entre los serotipos del dengue, independientemente de la severidad de la enfermedad y el tipo de infección (primaria o secundaria). (GUZMAN et al 1994, OPS 2002).

El diagnóstico serológico del dengue es complicado, por causa de los determinantes antigénicos de reactividad cruzada compartidos entre los 4 serotipos y los *flavivirus* en general. Por otra parte, considerando su presencia y los elevados niveles de anticuerpos observados en los individuos que desarrollan una infección de tipo secundaria, el estudio de monosueros tomados en la fase aguda o en la convaleciente temprana puede ser de utilidad, como criterio de caso probable o presuntivo de dengue. (GUZMAN et al 1994, OPS 2002).

Los virus del dengue son capaces de aglutinar los glóbulos rojos de ganso; esto ha permitido que la técnica de inhibición de la hemaglutinación (IH) sea aplicada en el estudio

serológico de monosueros y pares de sueros, con la utilización de antígenos de los 4 serotipos producidos en cerebro de ratón lactante y extraídos mediante el método de sacarosa acetona. Un incremento de 4 veces o más en el título de anticuerpos en un par de sueros es criterio diagnóstico para una infección reciente por *flavivirus*, por otra parte títulos de anticuerpos IH 1/2560 es el criterio más ampliamente utilizado para clasificar un caso como secundario. Por último, títulos elevados (1/1280) en monosueros es criterio de infección probable por dengue. (CHIPARELLI et al, GUZMAN et al 1997, OPS 2002).

La prueba de neutralización por reducción de placas (PNRP) es un ensayo sensible y específico, que permite la detección de anticuerpos neutralizantes al virus dengue. Estos anticuerpos son muy estables en el tiempo. Se ha reportado que en un individuo con una infección de tipo secundaria, el título de anticuerpos neutralizantes al primer serotipo que produjo la infección primaria, es mayor que contra el serotipo infectante durante la segunda infección. Hace poco otros autores, han reportado que esta teoría no puede aplicarse en su totalidad al serodiagnóstico, porque pueden observarse resultados discrepantes entre la neutralización y el aislamiento viral en individuos donde se conocen los serotipos infectantes de la primera y segunda infección. (CHIPARELLI et al, GUZMAN et al 1997, OPS 2002).

En los últimos años se han desarrollado diferentes sistemas Inmunoenzimáticos (ELISA) para el diagnóstico del dengue. Estos son económicos, rápidos, y fáciles de ejecutar. Muestran a su vez elevada sensibilidad y especificidad cruzada, lo que los hace de gran utilidad como pruebas de “tamizaje”. Diferentes ELISA desarrollados para determinar la presencia de anticuerpos totales anti-*flavivirus* han demostrado su utilidad en estudios seroepidemiológicos y en el diagnóstico serológico. (CHIPARELLI et al, GUZMAN et al 1997, OPS 2002).

El **ELISA** de captura de IgM se ha constituido en uno de los sistemas más importantes y útiles del diagnóstico y la vigilancia del dengue. Los anticuerpos IgM anti-dengue se producen transitoriamente durante las infecciones primaria y secundaria y su detección

indica una infección activa o reciente por dengue. Los anticuerpos se desarrollan con rapidez al 5<sup>to</sup> día de la enfermedad y en la mayoría de los pacientes se detectan anticuerpos IgM. La detección de anticuerpos IgM se ha convertido en una herramienta de incalculable valor para la vigilancia del dengue y de la FHD; resulta el método de elección en la mayoría de los laboratorios.

Diferentes estuches han sido desarrollados recientemente con diferentes grados de sensibilidad y especificidad. La mayoría de los sistemas se basan en un ELISA de captura de anticuerpos IgM e IgG que incluyen los 4 serotipos virales, lo que incrementa la sensibilidad del sistema. Recientemente se han desarrollado un sistema visual de tira reactiva PanBio la cual permite la detección de anticuerpos en menos de 5 min.

El sistema, que se basa en una cromatografía, muestra niveles de sensibilidad y especificidad de 99% y 96% respectivamente. (CHIPARELLI, et al, OPS Boletín Epidemiológico 2002)

### Prevención

La lucha contra el mosquito vector del virus del dengue es a la hora actual la única opción de que disponemos para reducir la incidencia de la enfermedad, tanto en sus formas benigna como severas. La resistencia de *Aedes sp.*, al DDT apareció en los años 60 y desde esa época los insecticidas órganos-fosforados comenzaron a ser utilizados en el control de *Aedes aegypti*. Otros métodos de lucha anti-mosquito incluyen: la utilización de larvicidas como *Bacillus thuringiensis* H-14 y otros. (CRUZ et al, 2002, ITURRINO et al 2006, CHIPARELLI et al)

La protección personal es evidentemente una medida complementaria a las otras como el uso de spray repelentes en el día, bien que esta última medida tiene un impacto muy limitado debido a los hábitos diurnos del vector. (GUZMAN. T, 1999, CRUZ et al 2002).

## **Prevalencia de anticuerpos IgG contra el virus del dengue en León.**

**Espinoza E.**

---

En cuanto a las medidas de tipo doméstico, es necesario evitar toda colección de agua, por mínima que sea esta, si estas son indispensables deben cubrirse sistemáticamente los recipientes. (GUBLER, 1998, CHIPARELLI et al).

Las fumigaciones a domicilio y las campañas son también de gran importancia pero para que sean eficaces deben ser practicadas periódicamente. (CRUZ, 2002, ITURRINO et al 2006).

## **Material y Método**

Tipo de estudio: Estudio Descriptivo de Corte Transversal.

Área de estudio: Área de Salud Perla María Norori del SILAIS- León.

Población de estudio: Todos los habitantes de la región urbana del área de salud Perla María Norori del SILAIS-León conformada por 60.983 habitantes.

Tamaño de la muestra: Un total de 290 muestras fueron incluidas en el estudio. El tamaño de la muestra fue calculada con la fórmula  $N = \frac{z^2 \cdot x \cdot \rho (1 - \rho)}{d^2}$ . Para la determinación del tamaño de muestra se utilizó el total de la población del área de salud, y en base a estudios anteriores (Kourí et al, 1985; Balmaseda et al 2003), se determinó una prevalencia esperada de 80%, con un error esperado del 5% y un límite de confianza de 95% obteniendo así una muestra de 290 personas.

Muestreo: Se realizó un muestreo por conglomerado, se escogió aleatoriamente de las tres áreas de salud del municipio de León el área de salud Perla María Norori, luego con una base de datos proporcionada por el CIDS (Centro de Investigación Demográfico en Salud) que poseían el listado de las casas debidamente codificadas ubicadas en esta área de salud, se procedió a escoger de igual manera, a través de los códigos, las casas que serían incluidas en el estudio y las 290 personas mayores de 2 años que vivían en dichas casas para que participaran en el estudio.

Período de estudio: 1 de Agosto del 2006 al 30 de Marzo del 2007

Criterios de inclusión:

- Vivir en el área de estudio.
- Ser mayor de 2 años.

## **Prevalencia de anticuerpos IgG contra el virus del dengue en León.**

**Espinoza E.**

---

-Firmar voluntariamente el consentimiento informado, y en el caso de los niños estar firmado al menos por uno de los padres o por un representante legal del niño.

Recolección de los datos: Se realizó la visita de las personas seleccionadas para el estudio, a cada uno se le explicó los objetivos del estudio, y se les preguntó si estaban dispuestos a participar en el estudio, haciendo constarlo a través de su firma en el consentimiento escrito, posteriormente se les pidió su colaboración para el llenado de la ficha con sus datos.

Recolección de la muestra: A cada paciente seleccionado se le tomó una muestra de sangre mediante punción venosa en volumen de 3 - 4ml en tubos sin anticoagulante, limpios, esterilizados y debidamente identificados.

Posteriormente las muestras fueron trasladadas en termos a temperatura de 4–8 °C hacia el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNAN-León, donde una vez obtenido el suero fueron procesadas.

Procesamiento de la muestra: Para la determinación de anticuerpos IgG contra virus del dengue en las muestras de suero, se utilizó el método de Dengue ELISA indirecto para IgG de la casa comercial PanBio (Sídney, Australia). La positividad o negatividad de las muestras fueron establecidas de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Fuente de información: Primaria mediante los resultados del análisis de laboratorio.

Análisis de los datos:

Se realizó un análisis descriptivo de los datos sociodemográficos y la seroprevalencia. También se aplicó un análisis bivariante de correspondencia para identificar gráficamente la relación entre las categorías de las variables edad y seropositividad. Este análisis realiza una reducción de la dimensión del problema en donde la proximidad, en términos matemáticos, entre las categorías indicará el nivel de asociación, que se comprueba con la prueba de Chi-cuadrado. Se utilizó el paquete estadístico SPSS para Windows versión 15.0

Aspectos éticos:

-A cada paciente se le explicó los objetivos del estudio, los procedimientos y beneficios de la toma de muestra, se les leyó la hoja de consentimiento informado, la cual fue firmada por cada uno de ellos una vez que aceptaron participar.

- La información fue manejada sólo por el grupo de investigación, y los resultados fueron utilizados sólo para fines del mismo.

## Operacionalización de las variables

VARIABLES	CONCEPTO	INDICADOR	VALORES
Edad	Número de años transcurridos desde el nacimiento.	Registro demográfico	1. 2 - 5 años 2. 6 - 14 años 3. 15 - 24 años 4. 25 - 40 años 5. $\geq$ 41 años
Sexo	Condición de género que distingue a las personas biológica y socialmente	Registro demográfico CID	1. Femenino 2. Masculino
Positividad de IgG para Dengue	Presencia de anticuerpos IgG contra el virus del dengue	Niveles de absorbancia $\leq 11$ : negativo 11.01 – 25: positivo débil 25- más: positivo fuerte	1. Negativo 2. Positivo débil 3. Positivo Fuerte

**Resultados**

Un total de 290 personas del área de salud Perla Norori del municipio de León fueron estudiadas en el período de Agosto 2006 a Marzo del 2007. La distribución de la población por grupos de edad muestra frecuencias similares entre los diferentes grupos de edad, a diferencia del grupo de 2-5 años con una frecuencia menor. Del total de individuos muestreados 148 (52%) eran del sexo masculino y 142 (48%) del sexo femenino. (Tabla 1)

**Tabla 1. Seropositividad para dengue por grupo de edad.**

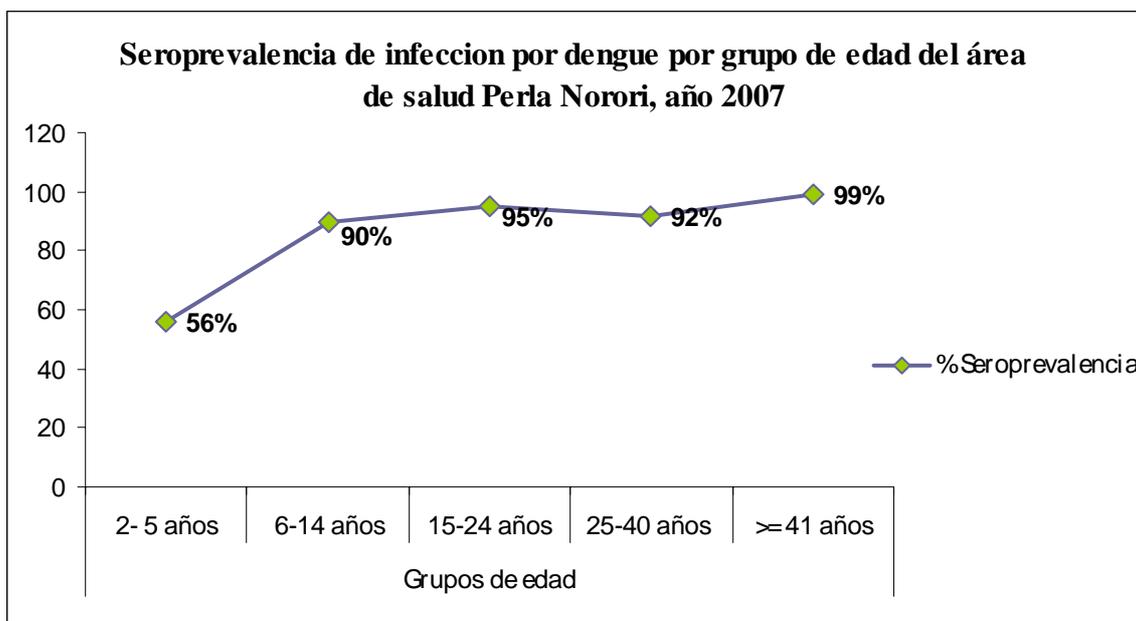
EDAD (Años)	Anticuerpos IgG		Total
	Positivo (%)	Negativo (%)	
2-5	<b>9</b> 56.3%	<b>7</b> 43.8%	<b>16</b> 100%
6-14	<b>51</b> 89.5%	<b>6</b> 10.5%	<b>57</b> 100%
15-24	<b>57</b> 95.0%	<b>3</b> 5.0%	<b>60</b> 100%
25-40	<b>66</b> 91.7%	<b>6</b> 8.3%	<b>72</b> 100%
≥ 41	<b>84</b> 98.8%	<b>1</b> 1.2%	<b>85</b> 100%
Total	<b>267</b> 92.1%	<b>23</b> 7.9%	<b>290</b> 100%

La seroprevalencia global de anticuerpos IgG contra el virus del dengue en la población general fue de 92%, y ligeramente mayor en los hombres con un 52%, que en las mujeres 48%. (Tabla 1) encontrando una prevalencia extraordinariamente alta.

En la distribución global de la seroprevalencia por grupo de edad. (Figura 1) se observa una prevalencia de 56% a partir de los 2-5 años y una pendiente elevada hasta un 90% de seropositividad en el grupo de 6-14 años, luego se comporta de manera relativamente constante respecto a la edad hasta llegar a un punto máximo de prevalencia del 99% a la

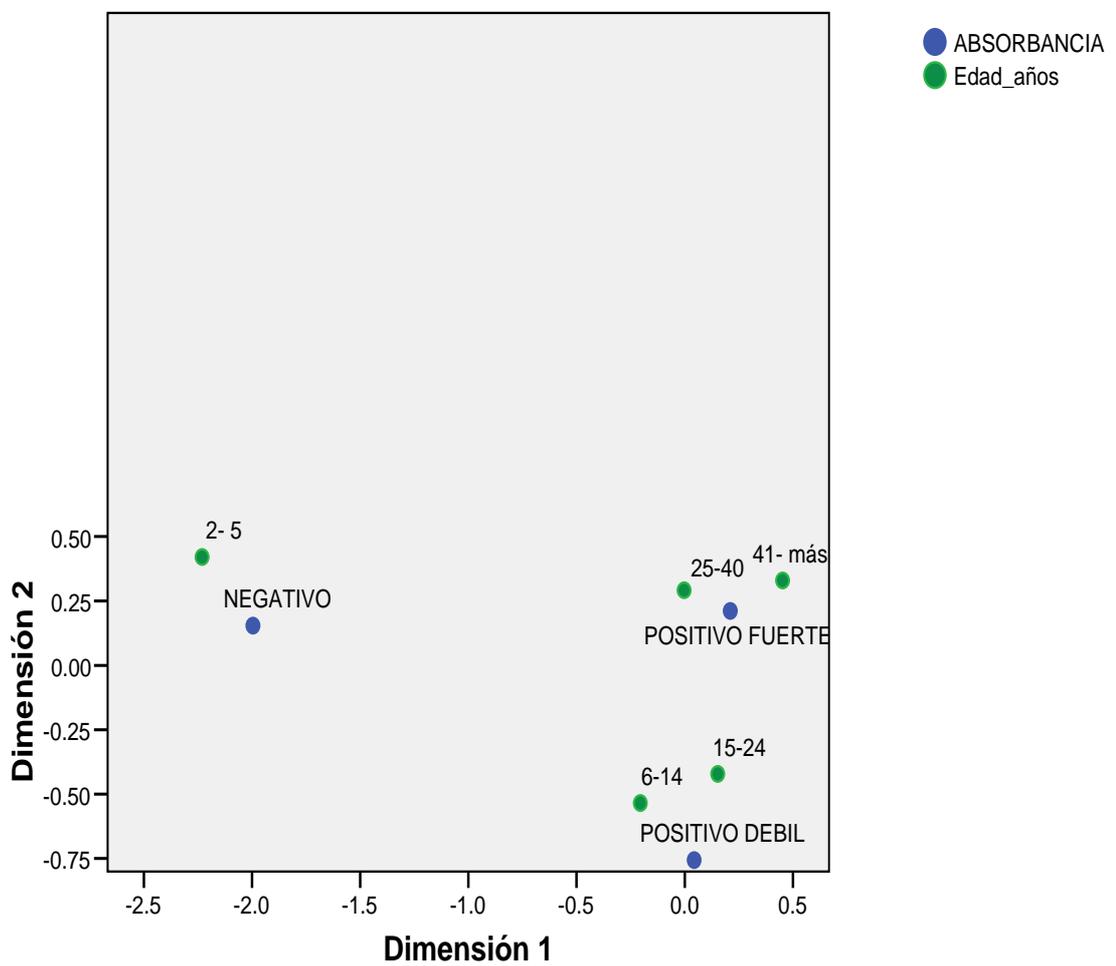
edad mayor de 41 años, con proporciones similares de hombres y mujeres seropositivos en todos los grupos de edad.

Figura 1.



Los resultados del análisis de correspondencia de la seropositividad asociada con los grupos de edad se muestran en el mapa perceptual (Fig. 2), donde se observa que el grupo de edad 2-5 años se asocia en menor medida a la seropositividad, en cambio tiende a la seronegatividad para anticuerpos del virus. En el otro extremo del gráfico se ubican los demás grupos de edad, donde se identifica una asociación entre estos grupos de edad y la seropositividad para dengue. Los grupos de 6-14 años y de 15-24 tienden a ser seropositivos débiles asociados con altos niveles anticuerpos, y los grupos de 25-40 años y mayores de 41 años se asocian en mayor medida la seropositividad fuerte con niveles de anticuerpos aún más elevados.

Asociación de la edad y los niveles de absorbancia a través del análisis de correspondencia



### **Discusión de los Resultados**

En América la prevalencia de dengue se ha incrementado dramáticamente en las últimas décadas. Desde su introducción en Nicaragua en 1985 hasta ahora, los cuatro serotipos del dengue han circulado por el país, y diferentes serotipos han predominado en cada una de las epidemias. La ciudad de León ha sido una región de alta incidencia de dengue desde los primeros brotes en el país, sin embargo se desconoce la seroprevalencia real de dengue basada en estudios de laboratorio que nos indiquen exposiciones previas al virus del dengue en habitantes sanos de esta región. En el presente estudio se reporta una seroprevalencia para el dengue mayor a la esperada, indicando una alta transmisión del virus del dengue en esta ciudad.

En 1997 un estudio serológico reveló que la seroprevalencia de dengue en Nicaragua era mayor del 77 %, desde 66% en niños a 81 % en adultos (BALMASEDA, et al 2006). En estudios de seroprevalencia de dengue en Nicaragua, realizado en la ciudad de Managua en el 2001 y 2002 en niños de 4-16 años, se determinó una alta seroprevalencia del 91%, con un marcado aumento de acuerdo a la edad, desde 75% a la edad de 4 años a 100% a la edad de 16 años (BALMASEDA, et al 2006). En el presente estudio la prevalencia de anticuerpos IgG específicos para el dengue en pobladores sanos del área de salud Perla Norori del municipio de León fue de 92%, con un aumento constante respecto a la edad, desde 56% en niños de 2-5 años a un 99% en adultos mayores de 41 años, lo que demuestra la alta y rápida transmisión del virus del dengue en zonas urbanas de nuestro país.

En América también son pocos los estudios que han investigado la seroprevalencia del dengue en una población sana. En general, los datos disponibles de grandes centros urbanos en América- Iquitos, Perú (HAYES et al. 1996), el Salvador, Brazil (TEIXEIRA *et al* 2002) y Río de Janeiro, Brazil (*da Cunha et al* 1995)-indican niveles de seroprevalencia (66%-83%) inferiores a los encontrados en León y Managua. Sin embargo, en Santo Domingo, la prevalencia en personas mayores es similar a la de Nicaragua, aunque difieren ya que el aumento de acuerdo a la edad no es tan marcado (YAMASHIRO *et al* 2004). En una

comunidad del Salvador (Las Palmitas) también se reportó una seroprevalencia de 96% (igualmente alta en todas las edades), indicando una alta actividad de dengue en los años anteriores, así mismo, en el 2000 recién ocurrido un brote en esta comunidad ese año, se determinó una seroprevalencia en niños de un año de edad del 78%.(HAYES, *et al.* 2003).

El análisis de correspondencia permitió identificar una asociación entre la seropositividad y la edad en esta región. Los niños de 2-5 años fue el grupo que se asoció menos con la seropositividad, lo que podría deberse, al corto tiempo de vida, y que hayan expuesto menos a la enfermedad, como el hecho de que el número de niños muestreado en el presente estudio fue un poco bajo. Por otro lado, los demás grupos de edad muestran una clara asociación con la seropositividad para dengue. Los grupos de 6-14 y de 14-24 años tienden a la seropositividad débil, posiblemente debido a que aún las exposiciones no han sido muy frecuentes pero si han presentado al menos un episodio de dengue.

En los grupos de 25-40 años y mayores de 41 años tienden a ser seropositivos fuertes, con niveles de anticuerpos más elevados. Esto guarda relación con lo encontrado en Goiânia , Brazil, en donde la seropositividad aumentaba con la edad y fué significativamente más elevada en los mayores de 50 años (SIQUEIRA et al, 2004). La tendencia de los grupos de mayor edad a la seropositividad fuerte, observada en el presente estudio, podría deberse a que los individuos en estas edades han estado expuestos continuamente al virus durante mayor tiempo y por un efecto acumulativo, el sistema inmune produciría más anticuerpos.

La seroprevalencia del dengue encontrada en el área de estudio es extremadamente alta, y teniendo en cuenta que los cuatros serotipos del dengue han circulado por el país (BALMASEDA et al 2006), se deduce que esta población, así como el resto de la ciudad, estan en riesgo de desarrollar un dengue hemorrágico o peor aún un síndrome de shock por dengue si se presentara una nueva epidemia de dengue, sin importar cual sea el serotipo infectante que predominara.

## **Prevalencia de anticuerpos IgG contra el virus del dengue en León.**

**Espinoza E.**

---

Para finalizar, la alta prevalencia de anticuerpos encontrada y el mayor riesgo de dengue hemorrágico esperado, son un llamado a las autoridades de salud pública a la implementación de nuevas estrategias dirigidas a la reducción de las fuentes de larvas a través de higiene ambiental, el único método que se ha demostrado que es efectivo, en lugar de optar por respuestas inmediatas utilizando los métodos tecnológicos para el control del mosquito vector una vez ya implantada la epidemia.

### **Conclusiones**

- La prevalencia global de anticuerpos contra el virus del dengue en individuos sanos del área de salud Perla María Norori fue del 92%, prevalencia mayor a la esperada para este estudio.
- La prevalencia de la infección por dengue aumenta de forma marcada con la edad, indicando una exposición acumulativa del virus. La seroprevalencia presenta una pendiente de aumento elevada que va desde un 56% en niños de 2-5 años hasta un 95% al llegar a la edad de 6-14 años, y llega a un máximo de 99% en los adultos, demostrando la transmisión intensa y sostenida del virus en esta área.
- Los resultados del análisis de correspondencia sugieren que la edad puede tener un impacto en la seropositividad para el dengue en esta región. De modo que los niños tienden a ser seronegativos, y los adultos mayores a la seropositividad fuerte con niveles más altos de anticuerpos.

**Recomendación**

- Intensificar la vigilancia epidemiológica por parte de las autoridades de salud, e implementar medidas efectivas de prevención dirigidas a la reducción de larvas a través de la promoción de la higiene ambiental para así evitar un aumento de la población del mosquito vector y que una nueva epidemia de dengue se presente en nuestro país.

**Bibliografía**

Balmaseda A, Harris E, et al. High Seroprevalence of antibodies against dengue virus in a prospective study of schoolchildren in Managua, Nicaragua. *Tropical Medicine and International Health*. June 2006. 11(6); p 935-942.

Balmaseda A, et al. Serotype-Specific differences in clinical manifestations of dengue. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2006. 74(3); p. 449-456.

Cruz, Antonio. Rolland Burger, Laurence. El virus del dengue. Julio-Agosto 2002. Disponible en internet: [www.film.diagnóstico.rog.pe/revista](http://www.film.diagnóstico.rog.pe/revista).

Chiparelli, Héctor. S. Chelotto, Felipe. Dengue una enfermedad emergente muy cerca de nuestro país. Disponible en Internet: <http://galeon.com/escuela11melo/dengue.htm>.

García M, et al. Determinación de IgG y anticuerpos totales contra el virus Dengue, muestras obtenidas en papel filtro. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. Vol. 14 N° 1. Lima Enero/Julio 1997.

Gubler Duane J. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clinical Microbiology Reviews*, Julio 1998; 11 (3): p 480-496.

Guzmán M, et al. Dengue in Nicaragua, 1994; Dengue in Nicaragua, 1994; reintroduction of serotype 3 in the Americas. *Panamerican Journal Public Health*. Vol. 1 N° 3. Washington Marzo 1997. Guzmán, María. Vásquez, Susana. Apuntes sobre el diagnóstico de laboratorio del virus del dengue. 2002. Disponible en Internet: [www.s/d.cu/revistas/mtr/vol154-02/mtr03302htm](http://www.s/d.cu/revistas/mtr/vol154-02/mtr03302htm).

Guzmán Tirado, María. Flores, Kuri. González Bravo, Gustavo, et. al. La emergencia de la fiebre hemorrágica del dengue en las Américas. 1999. Disponible en Internet: [www.cepis.ops.oms.org/bvsair/repindex/txt/guzman.pdf](http://www.cepis.ops.oms.org/bvsair/repindex/txt/guzman.pdf).

Hammond S, Balmaseda A, et al. Differences in dengue severity in infants, children, and adults in a three-years hospital-based study in Nicaragua. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2005. 73; p1063-1070.

Hayes J, et al. Risk Factors for infection during a severe dengue outbreak in El Salvador in 2000. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2003. 69; p 629-633.

Halstead SB. Immunological parameters of togavirus diseases syndromes. In: Schlesinger RW, ed. *The Togaviruses*. New York: Academic Press, pp 107-3.

Iturrino R, et al. Seroprevalence of dengue virus antibodies in asymptomatic Costa Rican children, 2002-2003: a pilot study. *Panamerican Journal Public Health*. 2006; 20 (1): 39-46.

Méndez Galván, Jorge. Gómez Mendosa, José. Martínez Núñez, José Guadalupe, et al. 2002. Dengue y dengue hemorrágico. Disponible en Internet: AcrobatReader-[v434marabr2002.pdf].

Noisakran Sansanee, et al. Alternate hypothesis on the pathogenesis of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF)/ Dengue Shock Syndrome (DSS) in dengue virus infection. Minireview. *Society for experimental Biology and Medicine*. Octubre 14, 2007.

Ochoa, Adriana María. El dengue en cápsula. 1998. Disponible en Internet: [www.outbreak.org/ugi-unreg/dunoserve.exe/dengue/fag.htm/#mutate](http://www.outbreak.org/ugi-unreg/dunoserve.exe/dengue/fag.htm/#mutate).

## **Prevalencia de anticuerpos IgG contra el virus del dengue en León.**

**Espinoza E.**

---

OPS. Boletín Epidemiológico. Dengue en Centroamérica. 2002. Disponible en Internet: [www.geosalud.com/enfermedades-infecciosas/dengue-centroamerica.htm](http://www.geosalud.com/enfermedades-infecciosas/dengue-centroamerica.htm).

OPS. Dengue y Dengue Hemorrágico en las Américas: Guía para su prevención y control. 1995.

OPS. Manual para control de las enfermedades transmisibles. Disponibles en Internet: AcrobatReader-[23dengue.pdf].

OPS. Boletín Epidemiológico. Dengue en Centroamérica 2002. Disponible en internet: <http://www.geosalud.com/enfermedades-infecciosas/dengue-centroamerica.htm>.

Razetti, Luis. Tibaire Montes, M. Dengue update-part. 2004. Disponible en Internet: [www.scielo.org.ve/scielo.php](http://www.scielo.org.ve/scielo.php).

Salvatella Argelo, Roberto. Aedes aegypti, Aedes albopictus y su papel como vectores en las Américas 1996 Disponible en Internet: [www.smu.org.uy/publicaciones/mu/1996v1/salvat.htm](http://www.smu.org.uy/publicaciones/mu/1996v1/salvat.htm).

Sangkawibha N, Rojanasuphot S. et al. Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiological study in Rayong, Thailand. Am J Epidemiol. 1984; 20:653-69.

Siqueira J, et al. Household survey of dengue infection in central Brazil: spatial point pattern analysis and risk factors assessment. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene., 71 (5), 2004, pp 645-651.

Suites, Daniel. Inmunología básica y clínica. 9 edición 2000. Editorial El Manual Moderno.

Harris, Eva. Videá, Elsa. Pérez, Leonel, et. al. Clinical, Epidemiologic, and Virologic features of Dengue in the 1998 epidemic in Nicaragua. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2000. 63; pp. 5-11.