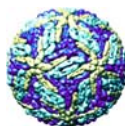




**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua
UNAN-LEON
Facultad de Ciencias Médicas
ESCUELA DE BIOANALISIS CLINICO**



“Seroprevalencia de IgG anti- Dengue en pobladores de los municipios de Puerto Cabezas (RAAN) y Bluefields (RAAS) en el periodo de Abril a Julio del 2009”.

**Tesis para optar al título de
Licenciado(a) en Bioanálisis Clínico.**

Autores (as):

Br. Yerith Nadiezca Osejo Soza.

Br. Indira Cecilia Páiz Martínez.

Tutor: Dr. Filemón Bucardo.

Asesor: Dra. Aleyda Téllez.

Agosto del 2009. León, Nicaragua.

RESUMEN

El dengue es uno de los principales problemas de salud pública en Nicaragua. Estudios realizados en ciudades del pacifico del país revelaron que aproximadamente el 90% de la población es seropositiva al dengue. Con el objetivo de investigar la seroprevalencia de IgG anti-dengue en ciudades del Caribe de Nicaragua, 200 pobladores de Puerto Cabezas y Bluefields fueron analizados mediante el método de ELISA indirecto para la detección de IgG anti-dengue en los meses de abril a julio, 2009. La seroprevalencia total de anticuerpos IgG anti-dengue obtenida fue del 70% (139/200), siendo menor que la reportada en estudios realizados en ciudades de la Costa del Pacífico y Centro de Nicaragua, habiendo mayor riesgo de infección en el área urbana (73%) que en la rural (44%) con un OR = 3.47, de igual manera el riesgo de infección fue mayor en las mujeres (73%) que en varones (64%) con un OR = 1.5. En los grupos de edades el riesgo de infección incrementa de 0.05 en ≤ 5 años hasta 7.33 en ≥ 26 años, y los que se dedican al trabajo de oficina tienen mayor riesgo de infección (OR = 8.93) que los que tienen otra ocupación. En los grupos étnicos los mestizos (72%) tienen un riesgo de infección 1.31 y los misquitos aparentemente tienen algún factor de protección 0.78. En base a la literatura revisada este es el primer estudio de seroprevalencia realizado en la Costa Caribe.

Palabras Claves: dengue, seroprevalencia, Puerto Cabezas, Bluefields, etnias y grupos de edades.

DEDICATORIA

A Dios, por las bendiciones que me ha dado y por siempre cuidarme, por ser padre bondadoso lleno de paz y sabiduría.

A mi abuelita Olga Obando (q.e.p.d), por el bien que me enseñaste, de mi ser siempre cuidaste. Por tus celestiales valores y guiarme de la mano, a ser perseverante siempre aprendí de ti.

A mi madre Dominga Soza Obando, por tus desvelos de madre, por tu paciencia y tesón, por instruirme en la vida, por tu amor.

A mi padre Ramón Osejo Ordeñana, me enseñaste a luchar aspirando siempre a lo más alto y a mis sueños nunca renunciar. Por tus palabras de aliento en mis momentos más tristes.

Padres tan hermosos y maravillosos, que siempre están ahí, tendiéndome su cálido abrazo. Por ser modelo en mi vida y poder siempre contar con ustedes.

Al Dr. Filemón Bucardo, tutor y guía de nuestro trabajo, por su paciencia, tiempo y dedicación, por el conocimiento que nos ha transmitido.

A toda mi familia, que siempre han estado apoyándome en cada paso que doy de mi vida, por muy lejos o cerca que se encuentren, este triunfo se los dedico a todos.

“Confía en el tiempo, que suele dar dulces salidas a muchas amargas dificultades” (Miguel de Cervantes Saavedra)

Yerith Nadiezca Osejo Soza.

DEDICATORIA

El tiempo....

Hay un momento para crecer, para florecer y para dar frutos

Dedico esta tesis y toda mi carrera universitaria a:

Dios: por ser quien ha estado a mi lado en todo momento dándome las fuerzas necesarias para continuar luchando día tras día y seguir adelante rompiendo todas las barreras que se me presenten.

A mis padres: Carlos Manuel Páiz Vanegas y Martha Cecilia Martínez González ya que gracias a ellos soy quien soy hoy en día, fueron los que me dieron ese cariño y calor humano necesario, son los que han velado por mi salud, mi educación, mis estudios son a ellos a quien les debo todo, horas de consejos, de regaños, de tristezas y de alegrías de las cuales estoy muy segura que las han hecho con todo el amor del mundo para formarme como un ser integral y de las cuales me siento extremadamente orgullosa.

A mi familia y amigos: por todo su apoyo incondicional y estar cerca de mis metas profesionales.

Indira Cecilia Páiz Martínez.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todas las personas que aportaron un granito de arena en nuestra investigación.

Departamento de Microbiología:

Dr. Filemón Bucardo.

Dra. Aleyda Téllez.

Lic. Patricia Blandón.

Puerto Cabezas:

Dr. Francisco Selva.

Dr. Armando José Palacios.

Lic. Francisca Acuña.

Enf. Erna Iván Fernández.

Ruth Patterson Vanegas.

Personal del Laboratorio del Hospital Nuevo Amanecer

Bluefields:

Dra. Susy Mayorga.

Dra. Janet López.

Sra. Francisca Lacayo.

Personal del Laboratorio del C/S Juan Manuel Morales.

Personal del Laboratorio del Hospital Dr. Ernesto Sequeira Blanco.

ÍNDICE

Contenido:	Página.
Introducción	1
Antecedentes	3
Justificación	4
Planteamiento del problema	5
Objetivos	6
Marco Teórico	7
Diseño Metodológico	23
Resultados	28
Discusión	35
Conclusiones	38
Recomendaciones	39
Bibliografía	40
Anexos	43

INTRODUCCIÓN

La incidencia anual de dengue alcanza hasta 50 millones de casos por año, a nivel mundial, se ha estimado que de 100 personas infectadas 1 requiere hospitalización y de 25 hospitalizadas 1 muere (1). Además se ha estimado que el 95% de todos los casos de dengue hemorrágico son niños menores de 15 años (1). En las Américas, el dengue clásico se considera como la enfermedad re-emergente más importante, mientras que el dengue hemorrágico se considera como la enfermedad de mayor trascendencia en América Tropical (2).

El Dengue es una enfermedad infecciosa transmitida por el *Aedes aegyptis* y producida por un virus que pertenece al género *Flavivirus*, posee un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo (3). Según las características antigénicas el dengue se clasifica en cuatro serotipos DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4 (3).

El diagnóstico de laboratorio del Dengue incluye aislamiento y tipificación del virus en los primeros 5 días de infección, ya que durante este tiempo el virus se replica activamente. En esta etapa de la enfermedad el diagnóstico debe centrarse en la detección del virus por cultivo o del ARN viral por reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa (RT-PCR) (4).

Otros métodos incluyen pruebas de inhibición de la hemoaglutinación, neutralización, fijación de complemento, ELISA para IgG y ELISA de captura para IgM. Todas las pruebas, excepto la de ELISA IgM, requieren dos muestras separadas por 15 a 20 días. Sin embargo, esta última indica sólo diagnóstico presuntivo debido a reacciones cruzadas con otros Flavivirus tales como el virus de la fiebre amarilla (4).

Diversos estudios han descrito el comportamiento clínico y epidemiológico del dengue en Nicaragua, durante las grandes epidemias ocurridas en el País. En 1992, Fisher y Blandón, encontraron que la fiebre por dengue, fue más común en mujeres que en varones (69% versus 31%) en un estudio que incluyó pacientes que asisten al Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales (HEODRA), León (5). Estos hallazgos se relacionan con los reportados por Sambola, en un estudio realizado en Bluefields en 1995, donde se demuestra que el sexo femenino fue el más susceptible (56% versus 45%). Ambos estudios evaluaron únicamente las características clínicas y ningún caso fue confirmado por laboratorio (6).

En contraste, en un estudio sobre la prevalencia de IgG anti-dengue realizado en León por Espinoza y colaboradores concluye que la seroprevalencia en hombres fue ligeramente mayor que en mujeres (52% versus 48%) este estudio, además reveló que la seroprevalencia global en la población estudiada fue de 92% (7).

Los factores de riesgo asociados con la transmisión del virus del dengue dependen de la interacción entre el ambiente, el agente, el huésped y el vector, los que coexisten en un hábitat específico. La magnitud e intensidad de tales interacciones definirán la transmisión del dengue en una comunidad, región o país. Se han adoptado diversas estrategias para la elaboración de vacunas específicas contra el dengue, sin embargo se deberá esperar de 5 a 10 años para contar con una vacuna segura y eficaz (8).

La realización de este estudio en las comunidades de Puerto Cabezas y Bluefields permitirá conocer la seroprevalencia de anticuerpos IgG anti dengue y su asociación con características epidemiológicas de la población. Los datos generados serán relevantes para un mejor entendimiento de la enfermedad producida por el virus del dengue en esta zona.

ANTECEDENTES

La incidencia anual del dengue alcanza hasta 50 millones de casos por año, de los cuales 500,000 personas son hospitalizadas y 20,000 mueren. Un noventa y cinco por ciento de todos los casos de dengue hemorrágico ocurre en niños menores de 15 años de edad (1).

En Nicaragua la primera epidemia documentada de dengue se presentó en el segundo semestre de 1985, se reportaron 17,483 casos. Durante la misma se aislaron los serotipos DENV-1 y DENV-2 (2). La mayor morbilidad y las más elevadas tasas de ataque se registraron entre Agosto y Noviembre, siendo afectadas fundamentalmente las ciudades de León, Chinandega, Managua, Masaya, Granada, Carazo, Rivas. Estas regiones se corresponden precisamente con las zonas más densamente pobladas ubicadas en la Costa del Pacífico, en donde se encuentran los núcleos urbanos más importantes y populosos del país (9).

Posteriormente a la epidemia de 1985 se produjeron casos esporádicos en diversas regiones del País y en 1990 se produce el segundo brote provocando particularmente en Puerto Cabezas (RAAN) 4,137 casos (10).

Luego de estas epidemias, circulan 4 serotipos en Nicaragua, confirmándose la presencia de DENV-2 y DENV- 4 en el período de 1991 - 1993, DENV- 3 y DENV- 2 en el periodo de 1994 - 1997. En 1998 predomino DENV- 3 y además emergió el DENV- 2, el cual predomino en 1999 (11).

En el año 2003 los municipios más afectados en la RAAS fueron Bluefields y Corn Island con tasas de morbilidad de 37.5 y 33.5 x 10,000 habitantes respectivamente. Con respecto a los casos de dengue hemorrágico en la RAAS Y RAAN no se reportaron casos en el 2003 y 2004 (9).

Durante lo que va del año 2009, al menos 36 casos sospechosos de dengue clásico se han presentado en Bluefields (RAAS), según declaraciones del director del Ministerio de Salud (Minsa),

Fuentes del Hospital Regional Ernesto Sequeira Blanco (HRESB) informaron que cuatro pacientes ingresaron recientemente en lo que va del año a ese centro asistencial con aparente dengue hemorrágico (12).

JUSTIFICACIÓN

En las Regiones Autónomas del Atlántico Sur y Norte de Nicaragua el nivel económico es bajo en comparación con otras regiones del país, en consecuencia, estas regiones poseen características sociodemográficas que facilitan el desarrollo del vector y por tanto la infección.

Dada las características antes descritas y el difícil acceso a estas regiones que dificulta el diagnóstico de laboratorio, estas enfermedades son únicamente diagnosticadas mediante evaluación clínica. Estudios seroepidemiológicos del dengue en éstas regiones son escasos o no se han realizado del todo.

De esta manera, hemos decidido realizar este estudio que permitirá al sistema de salud contar con información reciente sobre la seroprevalencia del dengue en estas regiones.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la seroprevalencia de IgG anti- Dengue en pobladores de Puerto Cabezas y Bluefields?

OBJETIVO GENERAL

Determinar la seroprevalencia de IgG anti dengue en pobladores de Bluefields y Puerto Cabezas y su correlación con factores epidemiológicos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar características sociodemográficas y epidemiológicas de la población en estudio.
2. Determinar la seroprevalencia de anticuerpos IgG anti-dengue en la muestra poblacional estudiada.
3. Relacionar la seroprevalencia de IgG anti-dengue con las características epidemiológicas.

MARCO TEÓRICO

El dengue es una enfermedad infecciosa de causa viral producida por el género Flavivirus de la familia Flaviviridae y es transmitida al hombre por el mosquito de *Aedes aegypti*; el complejo dengue está integrado por 4 serotipos (DENV- 1, DENV-2, DENV- 3, DENV-4) (2).

Esta enfermedad se caracteriza por manifestaciones clínicas benignas, como un cuadro febril agudo que dura generalmente de 3 a 6 días con intenso malestar general y en algunas ocasiones acompañada de una erupción maculopapular; o producir un caso más severo, donde pueden aparecer síntomas hemorrágicos de poca intensidad. En los adultos se muestran graves fenómenos hemorrágicos debido a cambios patológicos que estos ya presentan provocando así hemorragias de las vías gastrointestinales en caso de úlceras peptídicas o menorragia (13,14).

De las enfermedades virales transmitidas por artrópodos, el dengue es la de mayor importancia actualmente y constituye una prioridad de salud pública en los países tropicales y sub- tropicales (15).

Virus del dengue: El virus del dengue es de forma esférica y mide entre 40 y 60 nm de diámetro constituido por una cadena simple de alrededor de 11 kilobases (kb) de ARN de polaridad positiva de 10,703 nucleótidos y de alta variedad genómica. Este opera directamente como ARN mensajero policistrónico, son lábiles a 56 °C (10 minutos), luz ultra violeta, detergentes, desinfectantes y formaldehído (3,14).

El genoma del virus del dengue codifica una poliproteína que es luego procesada en 10 polipéptidos: tres proteínas estructurales, la proteína C, compone la cápside que rodea y protege al ácido nucleico, la M que forma la membrana viral, y la E que forma la envoltura, y siete proteínas no estructurales. Se sabe que la glicoproteína E desempeña un papel fundamental durante la penetración y adhesión del virus a la célula y en la respuesta inmunitaria. Por su parte la proteína no estructural NS1 participa en la maduración viral y pudiera servir para el diagnóstico temprano (3, 14).

El material genético se encuentra protegido por una nucleocápside circular de simetría poliédrica; el diámetro del núcleo es de 25-30 nm. Entre la envoltura y la nucleocápside se encuentra una bicapa lipídica, cuyos lípidos se derivan de la membrana celular del hospedero (3,14).

El origen del dengue se desconoce exactamente, algunos estudios indican que surgieron a partir de un virus de mono hace aproximadamente 1,000 años y que la transmisión al hombre ocurrió en el transcurso de los últimos 320 años. Según investigaciones sitúan su origen en el continente Africano; otras lo colocan en Asia (8,15).

Según investigaciones se ha comprobado la recombinación entre cepas en presencia de varias poblaciones virales en un mismo hospedero, esto posiblemente se da debido a la circulación simultánea de genotipos diferentes de un serotipo en un mismo hospedero. Se desconoce el significado de estos hallazgos sin embargo la diversidad genética del virus del dengue puede ocasionar la aparición de cepas con mayor capacidad de replicación, de más fácil transmisión o más virulencia. Esta diversidad genética también pudiera asociarse con la aparición de cepas con determinantes antigénicos o tropismo alterados (8, 16).

Distribución: Actualmente los virus del dengue de múltiples tipos son endémicos en muchos países tropicales. Las epidemias pueden surgir en cualquier sitio en que existan los vectores y se introduzca el virus tanto en zonas urbanas como rurales (17,18).

En Asia los virus son altamente endémicos en la parte meridional de China y en Hainán, Vietnam, Laos, Sri Lanka, Indonesia, Filipinas, Malasia, Singapur; son endémicos en menor grado en Nueva Guinea, Bangladesh, Queensland, Norte de Australia, virus del dengue de varios tipos (17,18).

Los cuatro serotipos son endémicos actualmente en África. En grandes áreas de África occidental los virus probablemente se transmiten en forma epizootica en monos; El dengue urbano que afecta a humanos también es común en esa zona. En años recientes se han observado brotes de dengue en las costas orientales de África, desde Mozambique hasta Etiopía y en las islas distantes como la Seychelles y Comoro, también se a notificado un pequeño número de casos de dengue en otros países, similares a fiebre hemorrágica en Yeddah y Arabia saudita (17,18).

Desde 1977 en las Américas se ha observado la introducción o la circulación sucesiva de los cuatro serotipos de virus, en el Caribe, América Central y del Sur, y su extensión a Texas en 1980 y 1986. En la actualidad, dos o más virus del Dengue son endémicos o muestran periodicidad epidémica en México, casi todo el Caribe y América Central, Colombia, Bolivia, Ecuador, Perú, Venezuela, La Guayana Francesa, Guyana, Suriname, Brasil y Paraguay (17,18).

Aspectos epidemiológicos

Vectores y reservorios: El dengue tiene como vectores a los mosquitos del género *Aedes*, la especie más importante de este género en la transmisión es *Aedes aegypti*. Otro vector de importancia epidemiológica es *Aedes albopictus*, de gran distribución en Brasil. Ambos vectores pertenecen al subgénero *Stegomyia*. En otras zonas del planeta hay otras especies vectoras (16,18).

Aedes aegypti son artrópodos de clase *Insecta*, orden *Diptera*, familia *Culicidae* y subfamilia *Culicinae*, que incluye los géneros *Anopheles*, *Aedes* y *Culex*. Los huevos de *Aedes* y *Culex* no presentan los flotadores característicos de la subfamilia *Anophelinae*, transmisores de la malaria. Los de *Aedes* y *Anopheles* son depositados individualmente y los de *Culex* en grupos flotantes de aproximadamente 100 huevos (20). Las larvas de estos géneros cuelgan suspendidas oblicuamente de la superficie del agua y no paralelas como las de anofelinos. Todos ellos los depositan en la superficie de aguas quietas y generalmente limpias. Pueden diferenciarse de forma sencilla en su estado adulto por la posición de reposo y las características morfológicas de la cabeza. En reposo, los *Anopheles* toma una posición vertical u oblicua, mientras que los otros géneros tienen una posición paralela a la superficie donde se posan. Si se examina la cabeza se observa que tanto los machos como las hembras de *Anopheles* tienen los palpos tan largos como la proboscis, mientras que en los otros dos géneros, los palpos en las hembras son muy cortos, pero en los machos son largos (14).

El adulto de *Aedes aegypti* tiene un dorso con bandas de color plateada 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 (15, 19).

Este género está extensamente distribuido dentro de los límites de las latitudes 40 °N y 40°S y es altamente susceptible a temperaturas extremas y climas cálidos secos. Los adultos pierden actividad por desecación o por debajo de 12 -14 °C. Su capacidad de vuelo es de pocos metros y pican en las horas vespertinas y nocturnas en la vivienda junto a la que nacieron. Cada hembra deposita relativamente pocos huevos (aproximadamente 140) durante la ovoposición (puede haber dos o más). Los huevos pueden soportar la desecación durante un año y eclosionar tras unos cuatro días de humedad (15, 20).

Los virus son perpetuados en un ciclo que incluye al humano y al mosquito, que incluye al *Aedes aegypti* en centros urbanos de clima tropical (15,17).

Modo de transmisión: La transmisión es indirecta a través de los vectores biológicos ya mencionados. Se produce por la picadura del mosquito hembra del *Aedes aegyptis* infectado. La hembra se infecta cuando se alimenta de sangre contaminada que tiene como elemento blanco al humano (18).

El ciclo de transmisión del virus del dengue inicia con la inoculación del virus en el ser humano por medio de la saliva de un mosquito. Esta persona tendrá al virus circulando en la sangre, una viremia que dura aproximadamente 5 días, donde el virus se localizará y replicará en diversos órganos diana, por ejemplo, nódulos linfáticos locales e hígado. El virus se libera luego de estos tejidos y se difunde por la sangre para infectar los leucocitos y otros tejidos linfáticos, luego se libera de estos tejidos y circula en la sangre. Durante el período virémico, un segundo mosquito *Aedes aegyptis* hembra, pica a la persona e ingiere sangre que contiene el virus. El virus se replica en la zona embrionaria del tubo digestivo del mosquito, los ovarios, el tejido nervioso y el cuerpo graso. Se difunde luego en la cavidad corporal y posteriormente infecta las glándulas salivales. A esto se le llama incubación extrínseca dentro del mosquito, que dura de 8 a 10 días (16).

A continuación el virus se replica en las glándulas salivales del mosquito y pica a una persona susceptible, transmitiéndole el virus también a ésta, así como también a cualquier otra persona susceptible que el mosquito pique durante el resto de su vida. También puede ocurrir la transmisión mecánica; cuando se interrumpe la alimentación y el mosquito se alimenta de inmediato en un huésped susceptible cercano (17).

El virus se replica en la segunda persona y produce síntomas. Los síntomas comienzan a aparecer en un promedio de 4 a 7 días después de la picadura del mosquito, éste es el período de incubación intrínseca dentro de los seres humanos, que también puede durar de 3 a 14 días (17).

Período de incubación: El período de incubación del virus en los humanos es de 3 a 14 días pero es más común de 5 a 8 días (20).

Período de transmisibilidad: No se transmite directamente de una persona enferma a otra, por medio de sus secreciones, ni por contacto directo con fuentes de agua o alimentos, los enfermos

suelen infectar a los mosquitos desde poco antes de terminar el período febril, un promedio de 6 y 7 días , el mosquito se vuelve infectante de 8 a 12 días después de alimentarse con sangre virémica y permanece así el resto de su vida (16).

Medidas preventivas

La estrategia general promovida por la OMS desde 1995 para prevenir y controlar el dengue comprende cinco elementos básicos:

- 1) El control del vector con la participación de la comunidad y de todos los sectores de la sociedad.
- 2) La vigilancia activa de la enfermedad, basada en la vigilancia clínica (con el apoyo de laboratorios capaces de detectar tempranamente las epidemias) y la vigilancia del nivel de infestación del vector (que permite monitorear y evaluar los programas de control).
- 3) La preparación para las emergencias, mediante planes de contingencia que contemplen la preparación del personal médico para situaciones urgentes, la hospitalización, la atención y el tratamiento de los enfermos y el control del vector.
- 4) El entrenamiento y el fortalecimiento de la capacidad nacional para la vigilancia, el diagnóstico de laboratorio, el cuidado y el tratamiento de los casos, así como el control del vector.
- 5) La investigación sobre todos los temas relacionados con el control del vector (21, 22).

Vacunas: Diversos factores han impedido la elaboración de vacunas específicas contra el dengue, como el aún incompleto conocimiento de su patogenia y el insuficiente financiamiento que han tenido las investigaciones sobre el dengue (21, 22).

Se han adoptado diversas estrategias como la búsqueda de vacunas convencionales con virus vivo atenuado o inactivado; vacunas recombinantes compuestas por proteínas obtenidas por ingeniería genética, vacunas quiméricas basadas en la preparación de clones infecciosos y vacunas de ADN. Sin embargo, no se espera que se pueda contar con una vacuna contra el dengue en los próximos 5 a 10 años (21, 22).

Factores de riesgo en dengue: La dinámica de transmisión del virus del dengue depende de interacciones entre el ambiente, el agente, la población de huéspedes y el vector, los que coexisten en un hábitat específico. La magnitud e intensidad de tales interacciones definirán la transmisión del dengue en una comunidad, región o país (20, 23).

Los factores de riesgo en la aparición y distribución de la enfermedad se agrupan en:

- a) Ambientales.
- b) Del agente.
- c) De la población susceptible.
- d) Del vector.

Estos componentes pueden dividirse en macrofactores y microfactores determinantes.

Macro factores determinantes de la transmisión del dengue:

Factores de riesgo ambiental y social: Entre los macro factores determinantes de la transmisión están las zonas geográficas donde el vector se desarrolla y entra en contacto con la población huésped. La altitud es un factor limitativo para el desarrollo de vectores y virus, además la temperatura media anual, la humedad y la precipitación pluviales son las condiciones que afectan a la sobrevivencia y reproducción de los vectores; la temperatura también afecta a la replicación del virus en el vector (21, 22).

También se reconocen varios factores sociales que determinan la transmisión del dengue. En las Américas el dengue es principalmente una enfermedad urbana, su transmisión está relacionada con densidades de población de moderadas a altas, una urbanización no planificada y densidades habitacionales muy elevadas. Las casas que tienen puertas y ventanas con tejido metálicos inadecuados o que carecen por completo de tejido protector, permiten el acceso de los mosquitos y los desagües bloqueados con las basuras, favorecen su reproducción. El agua almacenada en hogares durante más de una semana y el uso de tambores y tanques destapados para almacenar agua crean focos de proliferación. En muchas comunidades en las Américas los sistemas de abastecimiento de agua corriente individual son escasos y los surtidores públicos proporcionan agua solo en forma intermitente. En consecuencia, como la población almacena el agua potable, en las casas se van extendiendo los focos (21, 22).

Los sistemas inadecuados para la recolección y almacenamiento de desechos sólidos y el abandono de objetos voluminosos, como automóviles viejos, facilitan la proliferación de focos. Los neumáticos y recipientes pequeños en desuso con capacidad para menos de 50 litros de agua han sido asociados con un mayor riesgo de transmisión del dengue (21, 22).

La situación socioeconómica, es otro factor determinante de la transmisión del dengue, sin embargo, en cualquier comunidad los vecindarios más ricos o los más pobres pueden propagar grandes cantidades de focos (21, 22).

Las mujeres y los niños pequeños que pasan largos períodos de tiempo en el hogar, con una actividad mínima durante las horas del día, pueden experimentar exposiciones más largas a mosquitos potencialmente infectados que las personas que están fuera de la casa o activas (21, 22).

Las creencias y conocimientos de las familias sobre el dengue, sus causas y los medios para prevenirlo o controlarlo influyen en el nivel de saneamiento del ambiente doméstico y en última instancia, determinan la disponibilidad de lugares de producción de larvas en el entorno domiciliario (21, 22).

En resumen, la distribución y las densidades geográficas de las poblaciones humanas, las creencias en relación con el dengue, el estado socioeconómico la disponibilidad de los servicios públicos y las condiciones habitacionales pueden influir en el riesgo de transmisión (21, 22).

Micro factores determinantes de la transmisión del dengue:

Factores de riesgo propios del huésped, el agente causal y el vector: Los factores de riesgo que influyen en la transmisión del virus del Dengue deben separarse de los que influyen en la gravedad de la enfermedad. Entre las categorías de factores de riesgo reconocidos para la transmisión figuran los del huésped, el vector y el agente. El vector se desarrolla y entra en contacto con la población huésped (22).

Susceptibilidad e inmunidad: La infección por dengue, puede manifestarse leve o en su forma severa de Fiebre Hemorrágica por Dengue (FHD) y síndrome de shock por Dengue (SSD) que en ocasiones es fatal. Se ha propuesto que la infección con uno de los cuatro serotipos (DENV- 1, DENV- 2, DENV- 3, y DENV- 4) aumenta la susceptibilidad a sufrir FHD/SSD; sin embargo,

estas manifestaciones severas también han sido observadas en infecciones primarias lo cual sugiere que algunos serotipos y/o genotipos del virus podrían ser más virulentos que otros (24).

La susceptibilidad es universal en humanos (24). En el curso de la infección primaria, los títulos de anticuerpos aumentan lentamente no siendo muy elevados. En cambio, durante una infección secundaria con un serotipo heterólogo se forman complejos virus-anticuerpos que penetran en las células del sistema fagocítico mononuclear (monocitos y macrófagos) por la unión del fragmento constante de la inmunoglobulina - que forma parte del inmunocomplejo - a los receptores celulares del tipo gamma, aquí los títulos de anticuerpos se elevan rápidamente a niveles altos. Como consecuencia se infecta un mayor número de células y se favorece la diseminación viral. Este fenómeno se conoce como amplificación dependiente de anticuerpos (15, 17).

Es posible que el FHD se acompañe de reacciones autoinmunitarias. En la actualidad se sabe que después de una infección primaria se producen clones de células T $CD4^+$ y $CD8^+$ efectoras y con memoria que son específicas para el serotipo infectante, aunque capaces de reconocer los restantes serotipos. En el curso de una segunda infección se activan los clones con memoria frente al nuevo serotipo y así se desencadena la respuesta inmunitaria. En los casos de FHD se exagera la activación y liberación de citocinas, lo que se relaciona con la mayor gravedad del cuadro clínico. También se ha demostrado que en los pacientes con FHD se activa el sistema del complemento y en los casos graves se pueden detectar concentraciones elevadas de las proteínas C3 y C1q. Se plantea que los complejos virus-anticuerpos circulantes podrían ser los que activan la reacción en cascada del complemento (15, 17).

Esto puede deberse a la presencia de anticuerpos contra la proteína viral E y contra la proteína viral NS1 (con reactividad cruzada con algunos factores de la coagulación y con las plaquetas, respectivamente). Estos anticuerpos pueden desempeñar un papel importante en el mecanismo patogénico durante la infección secundaria (15, 16).

El origen de la susceptibilidad individual o colectiva referida a la FHD no está totalmente aclarado. Hemos mencionado el planteo que atribuye principalmente el proceso a un fenómeno inmunopatológico. Una hipótesis muy aceptada se refiere a la multicausalidad por varios

factores, que pueden mejorar el tratamiento de los pacientes y abordar más adecuadamente el desarrollo de nuevos fármacos antivirales y vacunas (24).

Tabla de factores de riesgo asociados con el Dengue Hemorrágico

<p><i>En relación al Huésped</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Preexistencia de anticuerpos para Dengue e intensidad de la respuesta previa.• Menores de 15 años• Mujeres• Raza blanca• Buen estado nutricional• Enfermedades crónicas (Diabetes, asma, etc.)
<p><i>Epidemiológicos</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Población susceptible• Presencia del vector• Alta densidad de infestación• Período de tres meses a cinco años entre las dos infecciones por serotipos diferentes• Secuencia habitual de DENV-2 secundario a otro serotipo
<p><i>En relación al virus</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Cepa de alta virulencia

Diagnóstico de laboratorio

Muestras utilizadas en el diagnóstico: Para la detección del agente se recomienda la toma de muestras de sangre durante el período febril y sobre todo antes del 5to día de comienzo de la enfermedad. El suero o plasma debe ser procesado casi inmediatamente o en su defecto almacenado a - 70 °C. En los fallecidos, deben obtenerse muestras de tejidos (hígado, bazo, nódulos linfáticos, sangre del ventrículo) lo antes posible, las que deben ser enviadas al laboratorio en condiciones de esterilidad, donde serán homogeneizadas y procesadas o almacenadas a -70 °C hasta su posterior procesamiento. Las muestras de tejidos fijadas en formalina y embebidas en parafina pueden ser utilizadas para la detección de antígenos con la

utilización de métodos inmunohistoquímicos o la detección del genoma viral mediante la reacción en cadena de la polimerasa (RCP). Las muestras que se envíen para aislamiento o detección del genoma viral deben ser transportadas a 4 °C (17, 20, 25).

Para el diagnóstico serológico se recomienda la toma de una muestra de suero después del 5to. día de comienzo de los síntomas, para la determinación de anticuerpos IgM. El estudio de muestras pareadas de sueros (tomadas en los primeros 7 días de comienzo de los síntomas y 14 a 21 días después) permite determinar el incremento en el título o la seroconversión de anticuerpos IgG (17, 25).

Si el paciente se presenta dentro de los primeros 5 días después de la aparición de síntomas, que es la fase aguda de la enfermedad, se debe extraer una muestra de sangre inmediatamente para ensayar el aislamiento del virus. El virus se puede aislar con mayor facilidad en muestras extraídas en los primeros días después de la aparición de los síntomas, si bien se ha aislado tanto como 12 días después de la aparición (15, 24).

Varios autores han demostrado la utilidad de las muestras de sangre seca sobre papel de filtro tanto para la detección de anticuerpos IgM como IgG. Este método se recomienda en estudios serológicos masivos, en la vigilancia serológica y en el estudio de muestras en niños pequeños. Recién se ha demostrado la utilidad de la saliva para la detección de anticuerpos IgM e IgG en dengue, se han observado niveles relativamente comparables a los observados en el suero de los pacientes, además se ha demostrado la utilidad de la detección de anticuerpos IgA para el diagnóstico de infección reciente (17, 23).

Aislamiento viral

Aislamiento viral en cultivos celulares y mosquitos: la aplicación de los cultivos celulares en el aislamiento del virus dengue ha tenido como consecuencia un incremento en la sensibilidad del aislamiento, aunque hasta el presente no existe un sistema de células de mamífero o mosquitos que sea capaz de inducir la producción de efecto citopático (ECP) de todas las cepas del virus. La línea celular LLCMK2 (riñón de mono) es la más sensible entre las líneas de células de mamífero, aunque esta sensibilidad varía en dependencia del serotipo y de las cepas virales. Otras líneas de células de mamífero como las Vero (riñón de mono) y BHK21 (riñón de hámster)

también han sido utilizadas con algún éxito en el pasado. En general, todas requieren de un período de adaptación hasta lograr títulos virales aceptables (3, 25, 26).

Identificación viral: El desarrollo de hibridomas que producen anticuerpos monoclonales específicos de serotipo ha posibilitado el desarrollo de un método rápido, simple y económico para la identificación de los virus del dengue con la utilización de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), independientemente del sistema biológico utilizado para el aislamiento viral. Las 4 clases monoclonales de diferente especificidad, han sido capaces de identificar aislamientos procedentes de diferentes áreas geográficas, tanto por IFI como por la técnica de neutralización por reducción de placas (3, 25, 26).

En general, el principal problema asociado con la identificación de los virus del dengue en los cultivos celulares con la utilización de anticuerpos monoclonales es la pobre replicación del virus, que resulta en una baja concentración viral en ocasiones. Por tal razón, la identificación en la siembra primaria es en algunos casos imposible, por lo que se necesitan 1 ó 2 pases en el mismo sistema celular con el objetivo de incrementar la concentración viral (25, 26).

Para el diagnóstico de rutina se recomienda la inoculación de muestras de suero diluidas 1/30 e inoculadas en volúmenes de 0,1 ml en monocapas de células C6-36/HT sembradas en tubos. Después de 30 min de adsorción a 33 °C se añade el medio celular de mantenimiento. Las células son observadas diariamente y al día 10 se realiza la cosecha y después la IFI. La utilización de un anticuerpo policlonal (líquido ascítico hiperinmune de ratón o un suero humano de alto título de anticuerpos a dengue) permite realizar un pesquisaje inicial para detectar las muestras positivas. Una segunda inmunofluorescencia, con la utilización de anticuerpos monoclonales a cada uno de los 4 serotipos del virus, permite la tipificación del serotipo. Estudios recientes recomiendan la centrifugación durante 30 min a 1,500-2,000 rpm de la muestra, una vez inoculada sobre la monocapa celular, lo que incrementa la rapidez y la frecuencia de aislamiento viral; este método logró 16 % más de aislamiento viral cuando se comparó al sistema usual, por otra parte 42 % de los aislamientos se detectaron al segundo día de la inoculación. La utilización de esta metodología ha permitido lograr niveles elevados de aislamiento viral en muestras de tejido de fallecidos por FHD (3, 25).

Diagnóstico serológico: En los individuos que sufren su primoinfección, los anticuerpos IgG anti dengue comienzan a incrementarse lentamente a partir del 5to.-6to.día de comienzo de los síntomas, los cuales son máximos 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 mono sueros tomados durante la fase aguda de la enfermedad (26, 27)

Los anticuerpos IgM anti dengue que se producen en respuesta a la infección se desarrollan rápidamente y hacia el 5to.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 del comienzo de los síntomas. Se ha observado que un pequeño número de individuos que sufren una infección secundaria por dengue, pueden no presentar niveles de anticuerpos IgM. La concentración, especificidad y duración de los anticuerpos IgM anti dengue es variable y depende en gran medida del individuo. 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). También se ha observado cierto grado de reactividad cruzada con otros Flavivirus como fiebre amarilla (FA) y encefalitis japonesa y otros (26, 27).

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.

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 (26, 27).

La PRNT (Plaque – Reduction Neutralization Testing) es considerada de gran utilidad en estudios seroepidemiológicos por su elevada especificidad, lo que permite identificar el serotipo causante de una infección pasada. También ha sido utilizada en la identificación de los virus del dengue.

Tanto la IH como la PNRP requieren de muestras de sueros pareadas en los casos sospechosos de la enfermedad, así como destreza en su ejecución.

En general, son técnicas demoradas en su ejecución. 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. El ELISA desarrolla un sistema inmunoenzimático que permite la detección y titulación de inmunoglobulinas totales a virus dengue, mediante un sistema de inhibición donde una vez añadido el antígeno, la presencia de color en la reacción dependerá de la presencia o no de anticuerpos a dengue en el suero problema. El enlace al antígeno de los anticuerpos anti dengue, presentes en el conjugado, será inhibido si en el suero problema (añadido con anterioridad) están presentes anticuerpos al agente en cuestión. 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 y al 5to.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 que incluyen los 4 serotipos virales, lo que incrementa la sensibilidad al sistema. Un estuche de captura de IgM (dengue IgM) y un sistema

ultramicroanalítico que utiliza solo 10 ml de muestra han sido desarrollados por investigadores Cubanos, los que son utilizados en el diagnóstico y la vigilancia de dengue en varios países y muestran niveles de sensibilidad y especificidad elevados. Recientemente se ha desarrollado un sistema visual de tira reactiva (PanBio) que permite la detección de anticuerpos IgM en menos de 5 min. El sistema, que se basa en una cromatografía, muestra niveles de sensibilidad y especificidad de 99 y 96 %, respectivamente (26, 27).

Detección molecular: La hibridación de ácidos nucleicos ha sido aplicada tanto en el diagnóstico como en los estudios epidemiológicos, específicamente el dot/blot con la utilización de ARN extraído de células infectadas con el virus y de pools de mosquitos *Aedes albopictus* infectados con probes biotinilados o probes marcados con P32. La detección mediante probes biotinilados es menos sensible que la que utiliza probes marcados con isótopos radiactivos y no es de gran utilidad en la identificación directa del virus en muestras clínicas, a menos que se haya realizado una amplificación previa del material genético (26, 27)

Cebadores específicos de tipo y de complejo han sido utilizados a partir de secuencias consenso localizadas en diferentes genes, como los que codifican para las proteínas de la envoltura (E), NS1, NS2 y NS5, así como los extremos 3' y 5' no codificantes (26, 27).

La RCP es ampliamente utilizada en el diagnóstico del dengue porque permite la detección del agente de forma directa en muestras de suero, células infectadas, sobrenadantes celulares y en larvas infectadas, así como en muestras de tejidos frescos y embebidas en parafina en fallecidos por FHD. A su vez ha permitido determinar la presencia de infecciones concurrentes por 2 serotipos. Hace poco, la RCP permitió la detección e identificación en menos de 6 horas del virus DENV- 2 en muestras de suero y tejidos en pacientes de dengue y FHD, procedentes del brote de Santiago de Cuba de 1997 (26, 27).

Además de su utilidad como un método de diagnóstico rápido también a sido empleado en el estudio genómico de cepas de dengue, lo que permite por medio del análisis mediante enzimas de restricción o secuenciación nucleotídica la clasificación de las cepas en genotipos.

Algunos reportes aparecen demostrando la utilidad de la RCP en la vigilancia de esta enfermedad, ya sea para detectar con rapidez la introducción de un nuevo serotipo en un área mediante el estudio de muestras de sueros de pacientes y de pools de mosquitos Aedes.

Detección antigénica: Un método alternativo para el diagnóstico rápido del dengue es la detección directa del antígeno viral en el suero del paciente o en muestras de tejidos de fallecidos, con la utilización de sistemas inmunoenzimáticos y técnicas inmunohistoquímicos. En general, los sistemas inmunoenzimáticos muestran baja sensibilidad, sobre todo cuando se estudian muestras procedentes de individuos que sufren una segunda infección por dengue (26, 27).

El desarrollo de sistemas inmunohistoquímicos y de la RCP ha ocasionado un incremento en la calidad del diagnóstico en los casos fatales de FHD/SCD, aunque todavía ambos sistemas no se encuentran disponibles en la mayoría de los laboratorios que asumen el diagnóstico de rutina (26, 27).

Pruebas de laboratorio clínico:

- Hemograma: Se encuentra leucocitosis y signos de hemoconcentración (hematocrito igual o superior al 20% por encima del promedio para edad y sexo); el aumento del hematocrito se considera prueba de aumento de la permeabilidad capilar y de la extravasación de plasma. La leucocitosis oscila entre 5,000 y 10,000/mm³. Solo el 10% de los enfermos presentan leucopenia entre el 3er.y 5to día. Se observa linfocitosis al final de la etapa febril (25).
- Coagulograma: Hay trombocitopenia, tiempo de sangramiento prolongado y fibrinógeno disminuido por aumento en su consumo. Por lo general después del 3er. día el recuento de plaquetas desciende a 100,000/mm³. En pacientes graves con seria disfunción hepática, se observa reducción de los factores de la coagulación dependientes de la vitamina K (factores V, VII, IX y X). En la mayoría de los casos, los estudios muestran descenso de la protrombina, factor VIII, factor XII y antitrombina III. En algunos casos se comprobado también una disminución de la α - antiplasmina (inhibidor de la α - plasmina). Entre la mitad y la tercera parte de los casos con FHD presentan,

respectivamente, alargamiento del tiempo parcial de tromboplastina activado y del tiempo de protrombina. Este último se alarga igualmente en los casos más graves (25, 26).

- Transaminasas: En algunos casos están elevadas.
- Ionograma: Hiponatremia.
- Urea: Elevada.
- Proteínas Totales: Hipoproteinemia.
- Complemento sérico: Está disminuido el Clq, C4 y C5- C8, con aumento del ritmo catabólico de C3.
- Electrocardiograma: Taquicardia o bradicardia, trastornos de repolarización y de la conducción aurículoventricular, con bloqueos de 1er y 2do grados.
- Rx. de Tórax: Reforzamiento de la trama broncoalveolar y derrame pleural bilateral o derecho.
- USG: Ascitis, hepatomegalia y edema perivesicular.
- Gasometría: Usualmente existe acidosis metabólica.

MATERIAL Y MÉTODO

Tipo de estudio: Descriptivo de corte transversal

Área y población de estudio: Bilwi, cabecera municipal de Puerto Cabezas, región autónoma del atlántico norte (RAAN) y Bluefields municipio de la región autónoma del atlántico sur. El municipio de Puerto cabezas tiene un área de 5984.81 km², con una población total de 66,169 habitantes. El municipio de Bluefields tiene un área de 4,774.75 Kms² y una población de 45,547 habitantes (28).

Tamaño de la Muestra: Un total de 200 habitantes, 100 por cada municipio fueron incluidas en el estudio. El tamaño de la muestra fué calculada con la formula $N = (Z^2 * p * (1-p)) / d^2$. Para la determinación del tamaño de la muestra se utilizó el total de la población de cada uno de los municipios en estudio, y en base a estudios previos sobre seroprevalencia de IgG anti-dengue (Balmaseda et al 2006), se determinó una prevalencia esperada de 90% con un error esperado del 5% y un límite de confianza de 95% obteniendo así una muestra de 276 habitantes, 138 por municipio.

Para la selección de los sujetos que participaron en este estudio, se realizó un muestreo por conveniencia, se incluyeron todos los pobladores que asistieron a los centros de atención médica que a continuación se describen y que cumplieron con los criterios de inclusión. De los 276 sujetos que participarían en el estudio, al final solo 200 sujetos accedieron a participar en el estudio.

Periodo de estudio: Abril y Julio del 2009.

Criterios de Inclusión:

1. Vivir en el área de estudio, urbano o rural.
2. Aprobación voluntaria del consentimiento informado y en caso de los menores de edad la autorización del padre de familia o tutor.
3. Habitantes que no presenten episodios febriles al momento de la toma de la muestra.

Recolección de la muestra: Previo a la toma de la muestra se lleno la ficha diseñada para la recolección de la información. Mediante venopunción se extrajo 5cc de sangre total en tubos al vacío con anticoagulante. Por centrifugación a 4,500 rpm se separo el plasma del resto de los componentes sanguíneos.

Conservación y transporte:

Las muestras fueron conservadas en microviales debidamente rotulados a una temperatura de - 20°C hasta su debido análisis. Las muestras fueron transportadas en termos a temperaturas entre 4 - 8 °C hacia el laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNAN-León, donde posteriormente fueron procesadas y analizadas.

Análisis de las muestras:

Procedimiento: Se utilizó el método de ELISA indirecto para detección de IgG anti-Dengue de la casa comercial PanBio (Sidney Australia). La positividad o negatividad de las muestras fueron establecidas de acuerdo a la especificación del fabricante. (Apéndice I).

La lectura de las absorbancias de cada análisis fueron obtenidos en el lector espectrofotométrico de microplacas para ELISA (Awareness Technology Inc, modelo Stat Fax 3200).

Análisis de los Datos: Una base de datos fue creada en el programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 15. De acuerdo a los objetivos planteados la medida de correlación entre la seroprevalencia, sexo y grupo de edades se realizó utilizando tablas 2x2 y OR (odds ratio) y la significancia estadística se definió con la prueba estadística chi cuadrado o Fisher.

Aspectos Éticos: Se solicitó permiso al Dr. Francisco Selva director del Hospital Nuevo Amanecer de Puerto Cabezas y a la Dra. Susy Mayorga Sub-director de docencia del SILAIS de Bluefields para la recolección de muestras en ambos sitios. Cada participante leyó el consentimiento que básicamente contiene los siguientes aspectos:

- El propósito del estudio.
- Por que se solicitó su participación.
- Cuanto tiempo duraría la entrevista y toma de muestra.
- Que análisis serian realizados con su muestra.
- Que efectos podría haber producido la toma de muestra.
- Que beneficios pudieron haber por participar en el estudio.
- De que manera se protegería su privacidad.
- A quien debía de llamar si necesitaba información.

Este estudio es parte del Proyecto “Infección del Virus del dengue y su asociación con factores genéticos del huésped en Nicaragüenses y Hondureños”, que se desarrolla en el departamento de microbiología de la UNAN-León. Dicho proyecto ha sido previamente evaluado y aceptado por el comité de ética para las investigaciones biomédicas (CEIB) de la facultad de medicina de la UNAN-León. Como parte del proyecto además de la muestra de sangre se toma una muestra de saliva a cada sujeto (Ver copia adjunta del acta No 20, de Junio 2008 del CEIB).

Clasificación de las condiciones de vivienda:

Se utilizó una modificación del método de Bronfman que consiste en determinar un índice que refleje las condiciones de vivienda, definida como buena, regular o mala, teniendo en cuenta, el suministro de agua, tipo de piso y disposición de excretas y tipo de paredes.

Variable	Clasificación	Características	Valor *	Índice
Condiciones de la vivienda	Buena	-Paredes de concreto -Piso de concreto -Inodoro -Agua potable	1 2 2 2	6-7
	Regular	-Paredes de tabla o latón -Piso de tabla -Letrina -Agua pozo	0 1 1 1	3-5
	Mala	-Paredes de tabla o latón -Piso de tierra -Fecalismo -Agua de río	0 0 0 0	0-2

*Los valores pueden variar según las características de las condiciones de la vivienda del individuo.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

VARIABLE	CONCEPTO	INDICADOR	VALORES
Edad	Tiempo de existencia desde el nacimiento	Ficha	≤5 años 6-15 años 16-25 años ≥26 años
Sexo	División del género humano en dos grupos: mujer o hombre	Ficha	Femenino Masculino
Ocupación	Empleo u oficio.	Ficha	Estudiante Ama de casa Obrero Pescadores Campesino Otros
Procedencia	Lugar de origen de una persona	Ficha	Urbano Rural
Etnia	Población humana en la cual los miembros se identifican entre ellos.	Ficha	Misquito Mestizo Criollos Garífunas Ramas Zumos
Lengua o idioma	Conjunto de reglas, compartido por los individuos que se están comunicando, que les permite intercambiar esos pensamientos, ideas o emociones.	Ficha	Misquito Ingles Español
Piso	Pavimento natural o artificial de las habitaciones.	Ficha	Ladrillo → 2 Embaldosado Tabla → 1 Suelo → 0
Paredes	Elementos verticales, que aseguran el cerrado de una casa o edificio y pueden estar formadas por materiales de albañilería	Ficha	Concreto → 1 Tabla ò latón → 0
Disposición de excretas	Es el lugar donde se arrojan las deposiciones humanas.	Ficha	Inodoro → 2 Letrina → 1 Fecalismo → 0

Suministro de Agua	Aprovisionamiento de agua para necesidades domésticas, proporción de agua para el consumo humano de un modo seguro.	Ficha	Potable →2 Pozo →1 Ríos →0
Características de la vivienda	Índice que refleje las condiciones de la vivienda, donde se evalúa las variables tipo de paredes, suministro de agua, tipo de suelo y disposición de excretas.	Ficha	Buena → 6-7 Regular → 3-5 Mala → 0-2
Animales	Seres orgánicos que viven, sienten y se mueve por propio impulso.	Ficha	Perros Gatos Cerdos Vacas. Etc.
IgG anti - Dengue	Presencia de anticuerpos IgG contra el virus del Dengue	Lecturas de absorbancias	Negativo Positivo

RESULTADOS.

Puerto cabezas.

Características epidemiológicas de la población en estudio: Se investigaron un total de 100 habitantes de Puerto Cabezas que asistieron a consulta general en el Hospital Nuevo Amanecer. El 75% (75/100) fueron del área urbana y el 64% (64/100) fueron mujeres. Con respecto a los grupos de edad, 17% fueron ≤ 5 años, 19% de 6 - 15, 30% de 16 - 25 y 34% ≥ 26 años. En relación a la ocupación, el 32% fueron estudiantes, 18% sin ocupación, 16% amas de casas, 16% trabajadores de la salud, 13% Obreros y un 5% fueron personal de oficina. De acuerdo a las características de la vivienda 72%, habitan en viviendas regulares 15% en viviendas buenas y 13% en malas. De los 100 individuos investigados, el 66% fueron miskitos, 30% mestizos, 3% creoles y el 1% que pertenecen a otras etnias (mayagnas y garífunas) (Tabla 1).

Seroprevalencia. Del total de individuos investigados el 66% (66/100) fueron seropositivos a IgG anti-dengue. La seropositividad fue mayor en el área urbana (73%), que en el área rural (44%). Las mujeres (73%), fueron más seropositivas que los varones (53%). La seropositividad fue mayor en individuos ≥ 26 años con (88%) y los menos afectados fueron los niños ≤ 5 años con (6%). En relación a la ocupación, las personas que se dedican al trabajo de oficina, resultaron más seropositivos (100%), seguido por los trabajadores de la salud (94%), amas de casas (88%), obreros (69%), estudiantes (59%) y personas sin ocupación con (22%). Según las características de la vivienda, los individuos que habitan viviendas malas son más seropositivos (62%), que aquellos que habitan viviendas regulares (32%) y buenas (20%). El porcentaje de seropositividad fue mayor en los mestizos (70%), seguido por creoles (67%) y los miskitos (64%) (Tabla1).

Relación entre las características epidemiológicas y seropositividad. El riesgo de infección en personas del área urbana sobre las del área rural es de 3.50 ($P < 0.05$). Mientras que el riesgo de infección en mujeres sobre varones es de 2.47 ($P < 0.05$). En este municipio, se observó que el riesgo de infección incrementa con la edad, siendo de 0.02 ($P < 0.05$) en los niños ≤ 5 años y alcanzando el máximo en ≥ 26 años con 6.25 ($P < 0.05$). Además se observó una tendencia según la clasificación de la vivienda, el riesgo de infección las personas que habitan viviendas malas tienen un riesgo 2.30, seguido por las regulares con 1.38 y en los buenos 0.27. El riesgo de

infección según los grupos étnicos, fue mayor en los mestizos con 1.30 seguido por creoles y miskitos 1.03 y 0.73 respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Seropositividad con respecto a las características sociodemográficas y epidemiológicas de Puerto Cabezas.

	Puerto Cabezas	% (n) IgG anti-dengue	^j OR, 95% ^k (IC)
<i>^a Procedencia:</i>			
Urbano	75	73 (55)	3.50(1.24-10.00)
Rural	25	44 (11)	
<i>^b Sexo:</i>			
Femenino	64	73 (47)	2.47 (0.96 – 6.39)
Masculino	36	53 (19)	
<i>Grupos Edad en años:</i>			
^c ≥ 5	17	6 (1)	0.02 (0.00 - 0.14)
6 – 15	19	58 (11)	0.65 (0.21 – 2.03)
^d 16 – 25	30	80 (24)	2.67 (0.88 – 8.38)
^e 26 ≤	34	88 (30)	6.25 (1.81 – 23.66)
<i>Ocupación:</i>			
Personal de Oficina	5	100 (5)	^l ND
^f Trabajadores salud	16	94 (15)	9.71 (1.24 – 206.16)
^g Ama de Casa	16	88 (14)	4.31 (0.84 – 29.44)
Obreros	13	69 (9)	1.18 (0.30 – 5.03)
Estudiante	32	59 (19)	0.65 (0.25 – 1.71)
^h Sin Ocupación	18	22 (4)	0.09 (0.02 – 0.35)
<i>Características de la vivienda:</i>			
ⁱ Mala	13	62 (8)	2.30(0.54-11.17)
Regular	72	32 (23)	1.38(0.51-3.74)
Bueno	15	20 (3)	0.27(0.07-1.01)
<i>Etnias:</i>			
Mestizos	30	70 (21)	1.30 (0.47 - 3.61)
Miskitos	66	64 (42)	0.73 (0.27 – 1.94)
Creoles	3	67 (2)	1.03 (0.07)
Otros	1	100 (1)	ND

^a: P= 0.0076329, ^b: P= 0.0372588, ^c: P= 0.0000000, ^d: P= 0.05442210, ^e: P= 0.0008020, ^f: P= 0.0109642, ^g: P= 0.0487351, ^h: P= 0.0000165, ⁱ: P= 0.0253565; ^j OR, odds ratio; 95% ^k IC, intervalo de confianza al 95%; ^l ND=No definido

Bluefields

Características epidemiológicas de la población de estudio. Se estudiaron 100 personas de Bluefields que asistieron a consulta general en el Centro de Salud Juan Manuel Morales. El 100% fueron del área urbana, no se evaluaron personas del área rural, el 62% fueron del sexo femenino. En relación a los grupos de edad, 32% fueron de 6 - 15 años, el 26% fueron ≥ 26 años, el 24% de 6 - 25 años y un 18% en ≤ 5 años. Con respecto a la ocupación, el 44% fueron estudiantes, el 21% amas de casa, el 17% sin ocupación, el 13% Obreros, el 3%, trabajadores de la salud y un 2% personal de oficina. De acuerdo a las características de la vivienda, las personas que habitan en viviendas regulares fueron 63%, viviendas buenas 33% y de las viviendas malas 4%. Mientras que en las etnias, un 81% fueron mestizos, 10% creoles, 8% miskitos y 1% que pertenecen a otras etnias (mayagnas y garífunas) (Tabla 2).

Seroprevalencia. Del total de individuos investigados el 73% (73/100) fueron seropositivos a IgG anti-dengue. Los varones (74%), fueron más seropositivos que las mujeres (73%). La seropositividad fue mayor en individuos ≥ 26 años con 96% y los menos afectados fueron los niños ≤ 5 años con 28%. En relación a la ocupación, las personas que se dedican al trabajo de Oficina, resultaron más seropositivos (100%) igual que los trabajadores de la salud (100%), seguido de obreros (92%), amas de casas (90%), estudiantes (73%) y personas sin ocupación (29%). Según las características de la vivienda, los individuos que viven en viviendas clasificadas como malas son más seropositivos (50%), que los que viven en viviendas clasificadas como buenas (30%) y regulares (24%). El porcentaje de seropositividad fue mayor en otras etnias (Mayagnas y garífunas) (100%), seguidos por miskitos (88%), mestizos (73%) y Creoles (60%) (Tabla 2).

Relación entre las características epidemiológicas y seropositividad. No se observó tendencia de infección entre mujeres y varones (OR= 0.95). Mientras que se observó que el riesgo de infección incrementa con la edad, siendo de 0.08 ($P < 0.05$) en los niños ≤ 5 años y alcanzando el máximo en ≥ 26 años con 13.54 ($P < 0.05$). En los que se refiere a la ocupación, existe un riesgo de infección en los obreros de 5.11, en las amas de casa de 4.40 ($P < 0.05$), estudiantes de 0.98 y en las personas sin ocupación de 0.09 ($P < 0.05$). Además se observó según la clasificación de la vivienda, un riesgo de infección en personas que habitan en viviendas regulares de 1.54, viviendas buenas 0.78 y en viviendas malas de 0.35. El riesgo de infección según los grupos

étnicos, fue mayor en los miskitos con 2.76 y menor en mestizos y creoles con 0.96 y 0.51 respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Seropositividad con respecto a las características sociodemográficas y epidemiológicas de Bluefields.

	Bluefields	% (n) IgG anti-dengue	^c OR, 95% ^f (IC)
Procedencia:			
Urbano	100	73(73)	ND
Rural	0	0 (0/0)	
Sexo:			
Femenino	62	73 (45)	0.95 (0.34 - 2.58)
Masculino	38	74 (28)	
Grupos Edad en años:			
^a ≥ 5	18	28 (5)	0.08 (0.02 - 0.29)
6 – 15	32	72 (23)	0.92 (0.33 - 2.62)
16 – 25	24	83 (20)	2.17 (0.60 - 8.48)
^b 26 ≤	26	96 (25)	13.54 (1.77-283.43)
Ocupación:			
Personal de Oficina	2	100 (2)	^g ND
Trabajadores de salud	3	100 (3)	ND
^c Ama de Casa	21	90 (19)	4.40 (0.88 – 29.64)
Obreros	13	92 (12)	5.11 (0.63 – 110.65)
Estudiante	44	73 (32)	0.98 (0.37 – 2.60)
^d Sin Ocupación	17	29 (5)	0.09 (0.02 – 0.34)
Características de la vivienda:			
Mala	4	50 (2)	0.35(0.33-3.75)
Regular	63	24 (15)	1.54(0.57-4.15)
Bueno	33	30 (10)	0.78(0.28-2.18)
Etnias:			
Mestizos	81	73 (59)	0.96 (0.26 - 3.32)
Miskitos	8	88 (7)	2.76 (0.31 - 62.57)
Creoles	10	60 (6)	0.51 (0.11 - 2.42)
Otros	1	100 (1)	ND

^a: P= 0.0000020, ^b: P= 0.0020989, ^c: P= 0.0487351, ^d: P= 0.0000165; ^e OR, odds ratio; 95% ^f IC, intervalo de confianza al 95%; ^g ND=No definido

Datos globales de Puerto cabezas y Bluefields.

Seroprevalencia. Del total de individuos investigados el 70% (139/200) fueron seropositivos a IgG anti-dengue. La seropositividad fue mayor en el área urbana (73%), que en el área rural (44%). La seropositividad fue mayor en las mujeres (73%) que en los varones (64%) y en individuos ≥ 26 años con (92%). Los menos afectados fueron los niños ≤ 5 años con 17%. En relación a la ocupación, las personas que se dedican al trabajo de oficina resultaron más seropositivos (100%), seguido por los trabajadores de la salud (95%), amas de casas (89%), obreros (81%), estudiantes (67%) y personas sin ocupación (26%). Según las características de la vivienda, los individuos que viven en viviendas clasificadas como buenas son más seropositivos (73%), que los que viven en viviendas clasificadas como regulares (72%) y malas (41%). El porcentaje de seropositividad fue mayor en otras etnias (Mayagnas y garífunas) (100%), seguido por mestizos (72%), miskitos (66%) y creoles (62%) (Tabla 3).

Relación entre las características epidemiológicas y seropositividad. Aparentemente el riesgo de infección es mayor en el área urbana que en el área rural (OR = 3.47, $P < 0.05$), y según el sexo, el riesgo de infección es mayor en mujeres que en varones (OR = 1.5 $P < 0.05$), además en este estudio, se observó que el riesgo de infección incrementa con la edad, siendo de 0.05 ($P < 0.05$) en los niños ≤ 5 años y alcanzando el máximo en ≥ 26 años con 7.33 ($P < 0.05$). El mayor riesgo de infección se observó en los trabajadores de oficina seguido por los trabajadores de la salud, amas de casa y en los obreros. Aparentemente trabajar en una oficina, en el sector salud, ser ama de casa u obrero son los principales factores predisponentes para infectarse con el virus del dengue (OR = 8.93, 4.44, 1.99 respectivamente). Además aparentemente las personas sin ocupación están protegidos (OR = 0.09), sin embargo a este grupo se incluyen niños ≤ 5 años. Las personas que habitan viviendas regulares con 1.40 seguidas por las buenas con 1.24 y malas con 0.27. El riesgo de infección según los grupos étnicos, fue mayor en los mestizos con 1.31 y menor en miskitos y creoles con 0.78 y 0.68 respectivamente (Tabla 3).

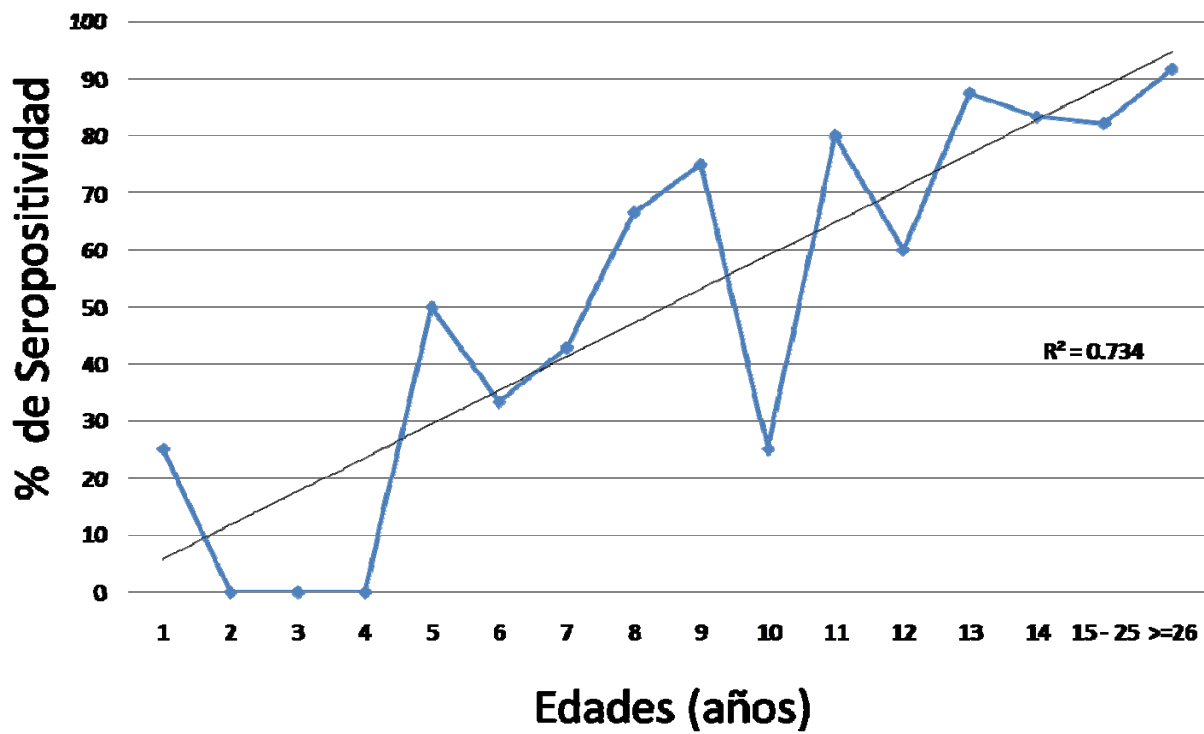
Tabla 3. Seropositividad con respecto a las características sociodemográficas y epidemiológicas globales.

	Total	ⁱ % (n) IgG anti-dengue	^j OR, 95% (IC)
^a Procedencia:			
Urbano	175	73 (128)	3.47 (1.36 - 8.89)
Rural	25	44 (11)	
Sexo:			
Femenino	126	73 (92)	1.5(0.80 - 3.08)
Masculino	74	64 (47)	
Grupos Edad en años:			
^b ≥ 5	35	17 (6)	0.05 (0.02 - 0.14)
6 – 15	51	67 (34)	0.84 (0.40 - 1.75)
^c 16 – 25	54	81 (44)	2.36 (1.04 - 5.48)
^d 26≤	60	92 (55)	7.33 (2.61- 22.25)
Ocupación:			
Personal de Oficina	7	100 (7)	^k ND
^f Trabajadores de salud	19	95 (18)	8.93 (1.21- 183.62)
^g Ama de Casa.	37	89 (33)	4.44 (1.40 – 15.57)
Obreros	26	81 (21)	1.99 (0.66 - 6.39)
Estudiante	76	67 (51)	0.83 (0.43 - 1.62)
^h Sin Ocupación	35	26 (9)	0.09 (0.04 – 0.23)
Características de la vivienda:			
Mala	17	41 (7)	0.27(0.09-0.82)
Regular	135	72 (97)	1.40(0.71-2.76)
Bueno	48	73 (35)	1.24(0.57-2.73)
Etnias:			
Mestizos	111	72 (80)	1.31 (0.69 - 2.51)
Miskitos	74	66 (49)	0.78 (0.40 - 1.52)
Creoles	13	62 (8)	0.68 (0.19 - 2.53)
Otros	2	100 (2)	ND

^a: P= 0.0031462, ^b: P= 0.0000000, ^c: P= 0.0255739, ^d: P= 0.0000087, ^e: P= 0.0122354,

^f: P= 0.0040503, ^h: P= 0.0000000; ⁱOR, odds ratio; 95% ^jIC, intervalo de confianza al 95%; ^kND=No definido

Grafico 1. Correlacion entre Seropositividad al virus del dengue y la edad, en pobladores de Puerto Cabezas y Bluefields, entre Abril y Julio del 2009 (n = 200).



DISCUSIÓN

La seroprevalencia de IgG anti-dengue que se observó en este estudio (70%), es menor que la reportada en estudios realizados en ciudades de la Costa del Pacífico y Centro de Nicaragua. Por ejemplo en el 2009 Espinoza y col., reportaron una prevalencia del 92% en un estudio realizado en el área urbana de León, similarmente en el 2008 Carbajal y col. reportaron, que la seropositividad en pacientes febriles de Matagalpa fue del 92%. En el 2006 Balmaseda y col. reportaron, que la seroprevalencia en niños de 4 - 16 años fue de 91% en un estudio realizado en Managua (7, 30, 31).

El dengue se considera una enfermedad urbana. Su transmisión se relaciona con: alta densidad poblacional, urbanización no planificada y por el hábito peri e intradomiciliar del vector. Coincidiendo con estas características, la seroprevalencia en el área urbana de Puerto Cabezas y Bluefields fue de 73%. El riesgo de infección en las personas que viven en el área urbana de Puerto Cabezas fue de 3.50 ($P < 0.05$), probablemente a consecuencia de la alta densidad habitacional. En el área rural la seroprevalencia fue de 44%, probablemente asociada con la baja densidad habitacional o la incapacidad del vector de volar más de 400 mts (21, 22).

En 1992, Fisher y col. realizaron un estudio que incluyó a pacientes febriles que asisten al HEODRA en León, encontraron que la fiebre por dengue fue más común en mujeres que en varones (69% versus 31%). Lo que coincidió con otro estudio realizado por Gonzales y col. en 1995, en el mismo hospital, donde demuestra que las mujeres son más susceptibles que los varones (65% versus 35%). Aunque estos estudios evaluaron únicamente las características clínicas, se observa una clara tendencia de enfermarse por dengue en las mujeres. El estudio realizado por Carbajal y col. en el 2008 en pacientes febriles de Matagalpa, reportó hallazgos similares (5, 32, 30).

En este estudio se confirmó la tendencia de infección en mujeres (73% versus 64%) ($OR = 1.50$) posiblemente esta tendencia está relacionada con las características peri e intradomiciliar del vector, pues muchas mujeres permanecen mayor tiempo realizando actividades propias del hogar y por tanto están más expuestas al mosquito. En apoyo a esta hipótesis, en este estudio la seropositividad en las amas de casa fue de 89%. Sambola en el año 1995, encontró que según la ocupación, el segundo grupo más afectado después de los estudiantes son las amas de casas con

un 26.9%. De forma similar Gonzales y col., en el año 2008, obtuvieron una incidencia de 27% en amas de casas (6, 32).

Otros estudios muestran una tendencia inversa, por ejemplo en un estudio realizado en León por Espinoza y col. en el año 2009, se observó que un 52% de casos positivos en los varones. Mientras que Olivas y col., en 1998 - 1999, obtuvieron una prevalencia de 46.9% en el sexo masculino contra 42% que obtuvo en el sexo femenino (7, 33).

Aunque existe mayor riesgo de infección al dengue en amas de casas, un dato relevante es que la prevalencia en trabajadores de oficina y trabajadores de la salud de Puerto Cabezas fue de 100% y 94% respectivamente, el riesgo de infección de los trabajadores de la salud que viven en Puerto Cabezas fue de 9.71 ($P < 0.05$), todo esto posiblemente relacionado con la dinámica de transmisión del virus del dengue, que depende de tres elementos esenciales: reservorio, vector y paciente susceptible. Los trabajadores de la salud, se encuentran en un ambiente rodeado de enfermos que pueden padecer dengue y los mosquitos circulando dentro del ambiente hospitalario, pueden fácilmente transmitir el virus del reservorio (paciente) al huésped susceptible (trabajador de la salud) (20, 23).

En este estudio se observa una tendencia de seropositividad a medida que aumenta la edad. El grupo ≤ 5 años (17%), fue menos asociado con seropositividad, lo que podría deberse al corto tiempo de exposición al virus. En consecuencia en los ≥ 26 años (92%) se vio un incremento, probablemente por el mayor tiempo de exposición al virus. Uno de los hallazgos relevantes de este estudio es la seropositividad en < 1 año 25% (2/8) lo que indica una fuerte exposición en el primer año de vida (Grafico 1) (31, 7).

A nivel global las personas que habitan viviendas regulares tienen mayor riesgo (1.40), sin embargo la estratificación por municipio muestra un mayor riesgo ($OR = 2.3$, $P < 0.05$) en las personas que habitan en viviendas malas en la zona de Puerto Cabezas.

En nuestro estudio la etnia mestiza obtuvo un 72% de seropositividad coincidiendo con el estudio realizado Sambola en Bluefields en 1995, en el que obtuvo un predominio de casos positivos en la etnia mestiza (66.9%) (6).

Un resultado interesante es la seropositividad obtenida en personas de la etnia miskita de Puerto Cabezas, de hecho estas personas aparentemente tienen un factor de protección reflejado en el valor del OR= 0.73.

Estudios realizados en Cuba revelan una mayor tendencia a infecciones en individuos de la raza blanca y se estima que el riesgo de infección es 2.6 veces mayor en dicho grupo racial. Pacientes investigados han demostrado que el serotipo II del dengue no infecta cultivo de monocitos de la raza negra, pero en cultivo de monocitos de la raza blanca se observó un incremento de infección (34).

CONCLUSIONES

1. Según las características epidemiológicas de la población estudiada se distribuye de la siguiente manera: 73% individuos del área urbanas, 73% del sexo femenino, 67% estudiantes, 92% \geq 26 años y 72% individuos de la etnia mestiza.
2. La seroprevalencia global de anticuerpos de IgG anti-dengue fue de 70%. En Puerto Cabezas fue de 66% y en Bluefields 73%.
3. La seropositividad fue mayor en individuos de procedencia urbana (73%, OR=3.47), del sexo femenino (73%, OR=1.5), en \geq 26 años (92%, OR=7.33), y de etnia mestiza (72%, OR=1.31).

RECOMENDACIONES

1. Investigar la seroprevalencia a grupos étnicos con el objetivo de conocer la susceptibilidad o factores relacionados con resistencia ya sea antivirales, del huésped o distribución del vector.
2. Extender el estudio de seroprevalencia al resto de municipios de la costa del Caribe, con el objetivo de conocer el comportamiento epidemiológico del dengue en esta zona.

BIBLIOGRAFÍA

1. Halstead, S, B. 2007. Dengue. *Lancet* 370, 1644 – 1652.
2. Jacobs M. 2000 Dengue: emergence as a global public health problem and prospects for control. *Trans R Soc Trop Med Hyg*; 94(1):7-8.
3. Henchal, E, A., Putnak, J, R. 1990. The dengue viruses. *Clin Microbiol Rev*; 3:376-396.
4. Freyre, E. 2006. Dengue. *Diagnóstico de Laboratorio*. Universidad Virtual Cátedra Manuel Fajardo. Cap. VII, pag. 8.
5. Fisher, V., Blandón, G. 1992. Comportamiento epidemiológico Clínico y de Laboratorio del Dengue en los Pacientes ingresados al Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello. León Nicaragua. Tesis para optar al título Doctor en Medicina y Cirugía. UNAN-León.
6. Bustamante, F., Sambola, E. 1995. Comportamiento epidemiológico y clínico del dengue en la ciudad de Bluefields. Tesis para optar al título Doctor en Medicina y Cirugía. UNAN-León.
7. Espinoza, E. 2009. Prevalencia de Anticuerpos IgG contra virus del dengue en una población sana del área de salud Perla María Norori del SILAIS –León. Tesis para optar al título de Licenciado en Bioanálisis Clínico. UNAN-León.
8. Añez, G. 2007. Evolución molecular del virus dengue: un área de investigación prioritaria. *Invest. clín.* vol.48 (3):273-276.
9. Ministerio de salud, 2003. Boletín Epidemiológico. Semana Epidemiológica No. 35,
10. Ministerio de salud. 2001. Programa Nacional de Dengue. Semana Epidemiológica No. 42.
11. Ideaquez, W., Almanza, E. 2004. Características Clínicas y Epidemiológicas de casos de Dengue. Hospital Infantil Manuel de Jesús Rivera y Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello. Tesis para optar al título de Maestro en Epidemiología. Pag: 14.
12. León, S. 2009. La prensa. Controlan casos de dengue en Bluefields. Archivo 324721.
13. Organización Panamericana de Salud. 1995. Dengue y dengue Hemorrágico en las Américas: guía para su prevención y control. Publicación científica N°548. Washington D.C. (OPS).
14. Lindenbach, B.D., Rice, C.M. 2003. Molecular biology of flaviviruses. *Adv. Virus Res.* 59, 23-61.
15. Pan American Health Organization. Retorno del dengue a las Américas, llamada de alerta a los sistemas de vigilancia. Washington, DC. 2002. (OPS).
<http://www.paho.org/Spanish/DPI/100/100feature08.htm>

16. Chungue, E., Cassar, O., Drouet, M.T., Guzmán, M.G., Laille, M., Rosen, L., Deubel, V. 1995. Molecular epidemiology of Dengue-1 and Dengue-4 viruses. *J. Gen.* Vol. 76: 1877-1884.
17. Wengler G, Wengler G. *Flaviviridae*. *Arch Virol*, 1991. 119. (supl. 2): 223-233.
18. J, Claude, Bennett, Fred Plum; 1997. Virus causantes de fiebres hemorrágicas; Cecil tratado de medicina interna volumen 11; pagina 2084. Editorial Interamericana- McGraw Hill, México DF
19. Clark, G, G.1995. Situación Epidemiológica del Dengue en América. Desafío para su vigilancia y control. Vol. 37. Pág. 5-11. Cuernavaca, México. Instituto Nacional de Salud Pública.
20. Botero, D., Restrepo, M. 2003. *Parasitosis Humana* cuarta edición. Capitulo 15. Pag: 391-393. Editorial: CIB.
21. Marcos, J., Cabrera, A. 2006. Actualización sobre el Dengue como enfermedad reemergente, para evitar que sea permanente. Disponible: www.portalesmedicos.com/.../Actualizacion-sobre-el-Dengue-como-enfermedad-reemergente,-para-evitar-que-sea-per
22. Guzmán, M, G., García, G., Kourí, G. 2007. El dengue y el dengue hemorrágico prioridades de investigación, vol. 21(Nº4). Washington. (OPS).
23. Guzmán, M, G., Kouri, G. 2006. Pan American Health Organization. El dengue, un problema creciente de salud en las Américas.; vol.19 (3) pág. 204-205. Washington. (OPS).
24. Guzmán, M, G. 2005. Sequential dengue infection. The Cuban experience. *Dengue Digest*.2 (3):2.
25. Henchal, E, A., McCown, J, M., Burke, D, S., Seguin MC, Brandt WE. 1985. Epitopic analysis of antigenic determinants on the surface of dengue-2 virions using monoclonal antibodies. *AmJ Trop Med Hyg*;vol. 34(1):pag162-9.
26. Ospina, M, C.2004. Dengue: Diagnostico por el laboratorio. *Infectio*. vol.8.
27. Vordam, V., Kuno, G.1997 Laboratory diagnosis of dengue virus infections, in Gubler DJ and Kuno G editors. *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. CAB International,
28. Instituto Nicaragüense de Estudio y censos (INEC), 2005. VIII Censo de Población y IV de Vivienda, Cifras oficiales de Censos Nacionales. Pag: 11- 12. Disponible: http://www.inide.gob.ni/censos2005/CifrasO_Tablas.pdf.
29. Brown, Wold. Eugene y col. 2002. *Principios de Medicina Interna de Harrison*, Tomo I. 15ª edición. Capitulo 114. Parte 6. Oncología y hematología. Sección 2. Trastornos hematopoyéticos. México. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. Pag: 869.

30. Carvajal, P., Márquez, J. 2007. Frecuencia de anticuerpos anti-dengue IgM e IgG en pacientes febriles que asistieron al centro de salud Trinidad Guevara Narváez, Matagalpa. Tesis para optar al título Licenciado en Bioanálisis Clínico
31. Balmaseda, A., Hammond, S., Tellez, Y., Imhoff, Y., et al. 2006. High seroprevalence of antibodies against dengue virus in a prospective study of schoolchildren in Managua, Nicaragua. *Tropical Medicine and International Health*. Jun. 935 - 942.
32. Gonzales, L., Moreno, G. 1995. Comportamiento epidemiológico y clínico del Dengue en el Departamento de Medicina Interna del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello. Tesis para optar al título Doctor en Medicina y Cirugía.
33. Olivas, V., López, E., Quant, G. 1998 - 1999. Seroprevalencia del Dengue en el Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello, León, Nicaragua. Tesis para optar al título Doctor en Medicina y Cirugía.
34. B. de la C. Sierra, G. Kourí, and M. G. Guzmán. (2007). Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. *Arch Virol*. 152: 533–542

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA.
UNAN – LEÓN
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

Estudio:
Factores genéticos del huésped en casos de dengue

Código Laboratorio (identificador): / __ / __ / __ / __ /

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Mediante la firma de este documento, Yo, _____ doy mi consentimiento voluntariamente para donar una muestra de sangre y una muestra de saliva y ser entrevistado por una enfermera colaboradora del estudio: *Infección con el virus del Dengue y su asociación con factores genéticos del huésped en Nicaragüenses*, que se desarrolla en el Departamento de Microbiología de la UNAN-León y UNAH. Entiendo que la entrevista está relacionada con la sintomatología clínica, así como, con características epidemiológicas de la enfermedad del dengue.

Entiendo que fui elegido para participar en este estudio, porque presente o presento la sintomatología clínica de la enfermedad del dengue y la donación de una muestra de sangre y de saliva contribuirá al entendimiento de la relación huésped-virus, así como, al establecimiento de mejores metodologías de detección de marcadores genéticos y tipificación Molecular del dengue, lo cual, permitirá en el futuro el fortalecimiento de los programas de prevención de las enfermedad causada por el virus del dengue.

Se me ha informado que los responsables de este estudio no están obligados a cubrir los costos médicos de esta enfermedad y que los resultados de los análisis de laboratorio me serán proporcionados por las enfermeras colaboradoras de este estudio y que puedo solicitar información adicional en el Departamento de Microbiología de la UNAN-León con el Lic. Filemón Bucardo R. MSc, coordinador de este estudio, Tel: 311-2947.

He concedido libremente una muestra de sangre y de saliva y esta entrevista a la enfermera colaboradora de este estudio. Se me ha notificado que es totalmente voluntario y que aun después de iniciado puedo rehusarme a responder cualesquiera preguntas o decidir darla por terminado en cualquier momento. Se me ha dicho que las respuestas a las preguntas no serán reveladas a nadie y que en ningún informe de este estudio se me identificara jamás en forma alguna.

Firma del entrevistado: _____

Fecha: __ / __ / ____

Firma del entrevistador: _____

Fecha: __ / __ / ____

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA.
UNAN – LEÓN
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

Estudio:
Factores genéticos del huésped en casos de dengue

Código Laboratorio (identificador): / ___ / ___ / ___ / ___ /

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Mediante la firma de este documento Yo, _____ como padre/tutor legal doy mi consentimiento voluntariamente para que mi hijo (a) pueda donar una muestra de sangre y una muestra de saliva y ser entrevistado por una Bioanalista colaboradora del estudio: *Infección con el virus del Dengue y su asociación con factores genéticos del huésped en Nicaragüenses*, que se desarrolla en el Departamento de Microbiología de la UNAN-León y UNAH. Entiendo que la entrevista está relacionada con la sintomatología clínica, así como, con características epidemiológicas de la enfermedad del dengue.

Entiendo que mi hijo (a) fué elegido para participar en este estudio, porque presentó la sintomatología clínica de la enfermedad del dengue y la donación de una muestra de sangre y de saliva contribuirá al entendimiento de la relación huésped-virus, así como, al establecimiento de mejores metodologías de detección de marcadores genéticos y tipificación Molecular del dengue, lo cual, permitirá en el futuro el fortalecimiento de los programas de prevención de las enfermedad causada por el virus del dengue.

Se me ha informado que los responsables de este estudio no están obligados a cubrir los costos médicos de esta enfermedad y que los resultados de los análisis de laboratorio me serán proporcionados por las Bioanalista colaboradoras de este estudio y que puedo solicitar información adicional en el Departamento de Microbiología de la UNAN-León con el Lic. Filemón Bucardo R. MSc, coordinador de este estudio, Tel: 311-2947.

He concedido libremente una muestra de sangre y de saliva y esta entrevista a una colaboradora de este estudio. Se me ha notificado que es totalmente voluntario y que aun después de iniciado puedo rehusarme a responder cualesquiera preguntas o decidir darla por terminado en cualquier momento. Se me ha dicho que las respuestas a las preguntas no serán reveladas a nadie y que en ningún informe de este estudio se me identificara jamás en forma alguna.

Firma del padre/tutor: _____ Fecha: ___ / ___ / ___

Nombre del participante: _____. Firma: _____ Fecha: ___ / ___ / ___

Firma del entrevistador: _____ Fecha: ___ / ___ / ___

**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS .UNAN LEON**

Código Laboratorio (identificador): /_/_/_/_/_/

FICHA EPIDEMIOLOGICA

Datos generales:

Silais: _____ Municipio: _____ Fecha: _____

Unidad de Salud: _____.

Datos personales:

Nombre y apellido: _____

Edad: _____ fecha de nacimiento: __/__/__/_/ Sexo: F () M: ()

Ocupación: _____

Nombre del Padre y /o de la Madre: _____

Dirección: _____

Procedencia: Urbano _____ Rural: _____

Etnia: _____ Lengua o Idioma: _____

Padece alguna enfermedad crónica? _____ Cual?: _____

Datos de la vivienda:

Piso: _____ Paredes: _____ Dis. Excreta: _____

Suministro de agua: _____

Presencia de animales: _____

Resultados de Laboratorio:

Hematocrito: _____ Tipo Sanguíneo: _____ Absorbancia IgG: _____

Resultado de IgG: _____

Nombre(2): _____

APENDICE I

Panbio.

Diagnostic.

532 Seventeen Mile Rocks Rd, Sinnamon Park, Brisbane, QLD 4073 Australia.

Freecall: 1800 622 642.

E. panbio@panbio.com.

www.panbio.com

DENGUE IgG ELISA INDIRECTO

Cat No. E-DEN01 G

PRINCIPIO

Los anticuerpos se combinan con antígenos conjugados de dengue, agregado a la cinta reactiva de micropozos con superficie de poliestireno. El suero residual es removido por lavado y se le agrega la peroxidasa anti-humano IgG. Los micropozos serán lavados y decolorados por el sistema de sustrato que se les agrega, peróxido de hidrogeno/tetrametilbenzidini (TMB/H₂O₂). El sustrato es hidrolizado por una enzima y el cromógeno cambia a una coloración azul. Después de detener la reacción con ácido, el TMB se cambia a color amarillo. Esta coloración final nos indica la presencia de anticuerpos de dengue IgG.

MATERIALES PROPORCIONADOS.

1. Los antígenos del Dengue (serotipos 1, 2, 3, 4), agregados en los micropozos (12x8 pozos). Listos para su uso. Los pozos no utilizados deben de volver inmediatamente a ser almacenados en presencia de un desecante. Estable a temperatura de 2-8°C hasta su vencimiento.
2. Buffer de lavado concentrado - contiene un frasco de 60 ml por 20x de buffer salino concentrado de fosfato (pH 7.2-7.6) entre 20 y preservantes (0.1% proclinTM). Puede ocurrir la cristalización a bajas temperaturas. Lo mejor es incubar a 37°C hasta que se aclare. Mezcla de pozos. Diluir una parte del buffer de lavado concentrado con 19 partes de agua destilada. El buffer diluido puede almacenarse por una semana a una temperatura de 2-25°C.
3. Diluyente del suero - contiene dos frascos de 50 ml (rosado). Listo para su uso. Tris buffer salino (pH 7.2-7.6), con preservativos (0.1% ProclinTM) y aditivos. Estable a temperaturas de 2-8°C hasta que su vencimiento.
4. HRP Conjugado IgG Anti-Humano- Contiene un frasco de 15 ml (verde). Listo para su uso. Conjugado de peroxidasa IgG anti-humano de oveja con preservativos (0.1% proclinTM) y proteína estabilizadora. Estable a temperatura de 2-8°C hasta su vencimiento.

5. Tetramethylbenzidine TMB- contiene un frasco de 15 ml. Listo para su uso. Mezclar 3,3',5,5'- Tetramethylbenzidine y peróxido de hidrogeno en un tampón citrato ácido cítrico (pH 3.5-3.8). Estable a temperatura de 2-8°C hasta su vencimiento.
6. Suero control positivo – Un vial de tapa - rojo, con 200 µL de suero humano (contienen 0.1% acida de sodio y 0.005% sulfato de gentamicina). Estable a temperatura de 2-8°C hasta su vencimiento.
7. Calibrador del suero - Un vial de tapa - amarilla, con 400µL de suero humano (contienen 0.1% acida de sodio y 0.005% sulfato de gentamicina). Estable a temperatura de 2-8°C hasta su vencimiento.
8. Suero control negativo – Un vial de tapa-verde, con 200µL de suero humano (contienen 0.1% acida de sodio y 0.005% sulfato de gentamicina). Estable a temperatura de 2-8°C hasta su vencimiento.
9. Solución de tope – contiene un frasco de 15 ml. Listo para su uso. Acido fosfórico 1M. Estable a temperaturas de 2- 25°C hasta que su vencimiento.

MATERIALES ADICIONALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS.

1. Micropipetas automáticas ajustable con puntas desechables, preferible de capacidad de 5-1000 µl.
2. Agua des ionizada.
3. Sistema de lavado de los microplatos.
4. Espectrofotómetro para micropozos con filtro de 450nm.
5. Cronómetro.
6. Probeta graduadas.
7. Matraz.
8. Plato test de micropozos.

RECOLECCION DE LA MUESTRA Y PREPARACION.

A la sangre obtenida por venopunción, se colocara a temperatura (20-25°C) para que se coagule y luego centrifugarlo o también tomar la sangre con anticoagulantes para luego separar el plasma de acuerdo a los estándares del instituto clínico y de laboratorio (CLSI), (Estándares Aprobados- Procedimientos para la recolección de especímenes de sangre para el diagnostico por venopunción, H3-A4, 1998).

El suero o plasma será separado lo antes posible y refrigerado (2-8°C) o almacenados para su congelamiento a (-20°C). No se recomienda el uso de sueros lipémicos, hemolizados o ictericos.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA.

Nota; Asegúrese que todos los reactivos se establezcan a temperatura (20-25°C) antes de iniciar el procedimiento.

Procedimiento de ELISA

1. Desprender para utilizar solamente la cantidad de pozos que necesita de la tira. Se utilizara 5 micropozos para el control Negativo, control Positivo y calibrador en triplicado.
2. Luego de rotular los micropozos se diluirá los controles Positivos (P), controles Negativos(N), Calibrador (CAL) y la muestra del paciente.
 - Diluir 10 µL de suero o plasma en 1000 µL de diluyente de muestra.
3. Tomar 100 µL de la muestra diluida del paciente, de los controles, del calibrador y colocarlo en sus respectivos pozos.
4. Cubrir el plato e incubar por 30 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
5. Lavar 6 veces con la solución de lavado.
6. Pipetear 100 µL HRP conjugado IgG anti-humano en cada pozo.
7. Cubrir el plato e incubar por 30 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
8. Lavar 6 veces con la solución de lavado.
9. Pipetear 100 µL de TMB en cada pozo.
10. Incubar por 10 minutos a temperatura ambiente (20- 25°C), cronometrando desde la primera adición. Se mostrara un color azul.
11. Pipetear 100 µL la solución de stop a cada uno de los pozos en la misma secuencia y tiempo que la adición de TMB. Mezclar los pozos. El color azul cambiara a amarillo.
12. Leer la absorvancia de cada uno de los pozos en un filtro de 450 nm con un intervalo de filtro entre 600-650 nm.

INTERPRETACION DE RESULTADOS.

INDICADOR	UNIDAD PANBIO	RESULTADO
≤ 0.9	≤ 9	Negativo
0.9- 1.1	9- 11	Inespecifico
≥ 1.1	≥ 11	Positivo