

**Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales. Secretaría de Investigación y Postgrado.
Maestría en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles**

Maestranda
Lic. Silvina E. Hanke

Factores clínico-epidemiológicos y serotipos circulantes del virus Dengue en el brote ocurrido en 2016 en Posadas, Misiones

**Tesis de Maestría presentada para obtener el título de “Magíster
en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles”**

“Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto,
queda sujeto al cumplimiento de la Ley N°26.899”.

Directora
Dra. Graciela B. Jordá
Co-Directora
Dra. Karina A. Salvatierra

Posadas, Misiones 2019



Esta obra está licenciado bajo Licencia Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



Universidad Nacional de Misiones



Facultad de
Ciencias Exactas,
Químicas y
Naturales
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales

Maestría en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles

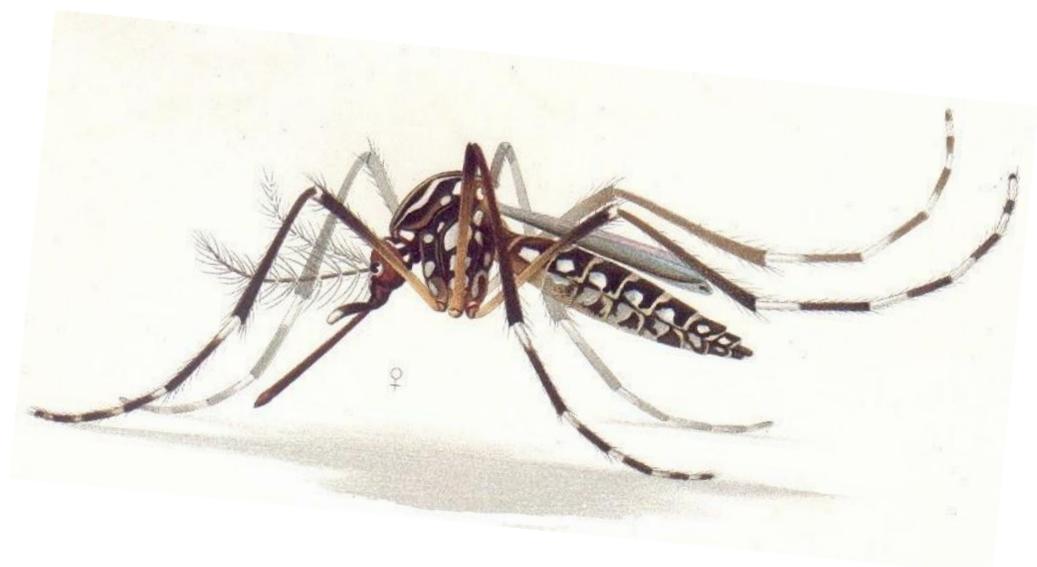
***Factores clínico-epidemiológicos y serotipos
circulantes del virus Dengue en el brote ocurrido en
2016 en Posadas, Misiones***

Autora: Lic. Silvina E. Hanke

Directora: Dra. Graciela B. Jordá

Co-Directora: Dra. Karina A. Salvatierra

Año: 2019



Dedico esta tesis a mi familia y amigos.

A mis papás, por ser mi guía, mis pilares, mi ejemplo a seguir.

A mis hermanos, por cuidarme y acompañarme siempre.

A Paulita, por tanta dulzura y amor.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Misiones por ofrecerme la oportunidad de continuar mi formación académica, y a los docentes de la Maestría, por su aporte al desarrollo académico y científico.

Al Instituto de Previsión Social de Misiones por brindar los recursos necesarios, y a sus profesionales por su importante aporte al desarrollo de esta tesis.

A mi Directora, Graciela Jordá, por confiar en mí, por su apoyo y dedicación en cada paso de mi formación profesional y académica, y por hacerlo con tanto amor.

A mi Codirectora, Karina Salvatierra, por haberme acompañado y contribuido en la realización de este trabajo.

A Jorge Deschutter, impulsor incansable de la continua formación académica, gracias por el apoyo y motivación.

A mis compañeros de maestría, por los dos hermosos años compartidos, en especial a Sergio, Vivi, Silvia, Karina, Silvana, Jorge, Mirta y Zulma, por estar siempre presentes y dispuestos a ayudar.

Resumen

El dengue es la enfermedad viral más importante transmitida por mosquitos a humanos por su alta morbimortalidad y el potencial de diseminación de su vector *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). Se estima que anualmente ocurren 96 millones de casos y más de 2,5 billones de personas viven en zonas endémicas.

El objetivo de este trabajo fue describir las características clínico-epidemiológicas de los pacientes de la obra social del Instituto de Previsión Social de Misiones (IPSM), afectados por el virus Dengue durante el brote ocurrido en la ciudad de Posadas en el año 2016, y detectar los serotipos circulantes.

Entre febrero y abril se estudiaron 201 muestras de suero de pacientes con sintomatología de dengue que concurren al laboratorio del IPSM: 108 muestras pareadas, tomadas en período agudo y convaleciente de la enfermedad, y 93 muestras únicas tomadas en período agudo para la identificación de serotipo. El rango de edad de estos pacientes estuvo comprendido entre los 6 y 92 años, con una media de 44,43 años (ds=19,9). El 62,7% (72/108) de los pacientes eran mujeres. En todos los casos se trataron de pacientes ambulatorios.

El 74% de las muestras pareadas fueron positivas, ya sea para la detección del antígeno NS1, o de los anticuerpos IgM e IgG mediante ELISA. Al realizar el análisis estadístico, no se encontró diferencia significativa entre la edad de los pacientes y la infección por dengue ($p = 0,34$). La edad media de las muestras positivas fue de 43,14 años (ds=18,55) y de 39,25 (ds=17,6) en las muestras negativas. Se halló una mayor proporción de hombres con dengue, frente a mujeres que presentaron la infección ($p = 0,04$).

Se analizó la asociación entre la infección por dengue y las siguientes variables: exantema, dolor abdominal, fiebre, vómito, mialgia, artralgia, cefalea, dolor retroocular, hematocrito >45, Plaquetas <140.000 y glóbulos blancos <4.000. Se halló diferencia estadísticamente significativa con hematocrito >45 ($p=0,013$) y glóbulos blancos <4.000 ($p=0,010$). Las manifestaciones clínicas más comunes fueron: fiebre (98,8%), mialgia (93,8%), cefalea (88,8%) y artralgia (80%).

Para la determinación del serotipo se estudiaron 113 muestras con sospecha de Dengue en período agudo. Todos los casos en que se logró detectar el genoma viral correspondieron a DENV-1.

No existen trabajos publicados de esta índole en la región, por lo que estos resultados aportan información sobre la epidemiología en la ciudad de Posadas que contribuye al conocimiento local de la enfermedad.

Palabras-clave: Dengue; serotipos; epidemiología; georeferenciación.

Abstract

Dengue is the most important mosquito-borne viral disease due to its high morbidity and mortality and the potential for dissemination of its vector, *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). It is estimated that 96 million cases occur annually and more than 2.5 billion people live in endemic areas.

The objective of this study was to describe the clinical-epidemiological characteristics of the patients of the Social Security Institute of Misiones (IPSM) affected by the Dengue virus during the outbreak in the city of Posadas in 2016, and detect the circulating serotypes.

Between February and April, 201 serum samples from patients with dengue symptoms who attended the IPSM laboratory were studied: 108 paired samples, taken in acute and convalescent period of the disease, and 93 unique samples taken in acute period for serotype identification. The age range of these patients were between 6 and 92 years, with a mean of 44.43 years (ds = 19.9). 62.7% (72/108) of the patients were women. In all cases they are outpatients.

74% of the paired samples were positive either for the detection of the antigen, or for the IgM or IgG antibodies by ELISA. When performing the statistical analysis, no significant differences were found between the age of the patients and dengue infection ($p = 0.34$). The average age of the positive samples was 43.14 years (ds = 18.55) and 39.25 (ds = 17.6) in the negative samples. A greater proportion of men with dengue were found, compared to women who had the infection ($p = 0.04$).

It was analyzed the association between dengue infection and the following variables: rash, abdominal pain, fever, vomiting, myalgia, arthralgia, headache, retroocular pain, hematocrit > 45, Platelets <140,000 and white blood cells <4,000. A statistically significant difference was found with hematocrit > 45 ($p = 0.013$) and white blood cells <4,000 ($p = 0.010$). The most common clinical manifestations were: fever (98.8%), myalgia (93.8%), headache (88.8%) and arthralgia (80%).

To determinate the serotype, 113 samples with suspected Dengue in the acute period were studied. All cases, in which the viral genome was detected, corresponded to a DENV-1.

There are no published studies of this kind in the region, so these results provide information on the epidemiology in the city of Posadas that contribute to the local knowledge of the disease.

Keywords: Dengue, serotypes, epidemiology, georeferencing.

Tabla de Contenidos

CAPÍTULO I	1
1.1 INTRODUCCIÓN	2
1.1.1 Arbovirus.....	3
1.1.2 El vector	4
1.1.3 Agente Etiológico.....	6
1.1.4 Transmisión del virus Dengue.....	9
1.1.5 Clasificación de la enfermedad	10
1.1.6 Cuadro clínico	11
1.1.7 Patogenia y respuesta inmune	13
1.1.8. Diagnóstico.....	15
1.1.9 Tratamiento y prevención.....	18
1.2 ALCANCES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	21
1.3 OBJETIVOS	24
1.3.1 Objetivo general:	24
1.3.2 Objetivos específicos:	24
1.4 JUSTIFICACIÓN	25
CAPÍTULO II.....	27
2.1 ANTECEDENTES	28
2.1.1 Situación en la Argentina	29
2.1.2 Situación en Misiones	33
CAPÍTULO III	34
3.1 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	35
3.1.1 Tipo de estudio y diseño.....	35
3.1.2 Población de estudio.....	35
3.1.3 Unidad de análisis.....	35
3.1.4 Criterio de inclusión	36
3.1.5 Criterio de exclusión.....	36
3.1.6 Consideraciones éticas.....	36

3.1.7	Instrumento de recolección de datos	37
3.1.8	Definiciones operacionales teóricas	37
3.1.9	Definición operacional de las variables y categorías.....	39
3.1.10	Descripción del ámbito de estudio.....	40
3.1.11	Georeferenciación.....	42
3.1.12	Análisis estadístico	42
3.2	MUESTRAS CLÍNICAS.....	42
3.3	METODOLOGÍA DE LABORATORIO.....	43
3.3.1	Determinación de hemograma y recuento de plaquetas.....	43
3.3.2	Detección de antígeno NS1	43
3.3.3	Detección de anticuerpos IgM e IgG.....	44
3.3.4	Procesamiento de las muestras para la realización de técnicas de amplificación de ARN	44
3.3.5	Nested RT-PCR para la serotipificación del virus Dengue.....	44
CAPÍTULO IV		47
4.1	RESULTADOS	48
4.1.1	Análisis de muestras pareadas.....	48
4.1.2	Análisis de muestras únicas (no pareadas).....	54
4.1.3	Georeferenciación de casos positivos	55
5.	DISCUSIÓN	58
6.	CONCLUSIONES	62
7.	LIMITACIONES DEL ESTUDIO	63
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
CAPÍTULO V		72
ANEXO 1		73
ANEXO 2		75

Tabla de Figuras

Figura 1. Carga global del Dengue, 2019.

Figura 2. Ciclo urbano y selvático del virus Dengue.

Figura 3. Ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti*.

Figura 4. *Aedes aegypti* picando a un humano.

Figura 5. Estructura del virus del Dengue.

Figura 6. Genoma del Virus Dengue.

Figura 7. Tiempos de incubación y enfermedad causada por el DENV.

Figura 8. Etapas de evolución del Dengue: etapa febril, etapa crítica y etapa de recuperación.

Figura 9. Viremia y cinética de Anticuerpos IgM e IgG en infecciones por virus Dengue.

Figura 10. Casos autóctonos confirmados y probables según Localidad y tasa de notificación por 100.000 habitantes según Departamento de residencia. Argentina y detalle en NOA, NEA y AMBA. SE1 a 16 de 2016.

Figura 11. Algoritmo general empleado en la detección de pacientes infectados con el virus Dengue. Posadas, Misiones, 2016.

Figura 12. Algoritmo laboratorial empleado en las muestras pareadas para la detección de pacientes infectados con virus Dengue. Posadas, Misiones, 2016.

Figura 13. Electroforesis en gel de agarosa (Muestras únicas).

Figura 14. Electroforesis en gel de agarosa (Muestras pareadas).

Figura 15. Georeferenciación de los casos positivos de Dengue. Posadas, Misiones, 2016.

Tabla de Gráficos

Gráfico 1. Distribución de casos de dengue notificados en el SNVS por semana epidemiológica según su clasificación. SE 44/2015 a 28/2016. Argentina. (N=77.586).

Gráfico 2. Distribución de casos de Dengue positivo por estrato en Posadas. Año 2016.

Gráfico 3. Proporción de casos de Dengue y viviendas positivas en los diferentes estratos de la ciudad de Posadas. Año 2016.

Índice de Tablas

Tabla 1. Primers utilizados en la nested RT-PCR para la serotipificación del virus Dengue.

Tabla 2. Frecuencia de casos positivos y negativos de Dengue por grupos de edad. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

Tabla 3. Frecuencia de casos positivos y negativos de Dengue en función al sexo. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

Tabla 4. Manifestaciones clínicas en pacientes con sospecha de Dengue. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

Tabla 5. Hematocrito y recuento de glóbulos blancos y plaquetas en pacientes positivos y negativos para Dengue. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

Tabla 6. Hematocrito y recuento de glóbulos blancos y plaquetas en pacientes positivos y negativos para Dengue. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

Tabla 7. Índices entomológicos de *Aedes aegypti* en los diferentes estratos de la ciudad de Posadas. Año 2016 (Sala de Situación en Salud de la Municipalidad de Posadas).

Abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AMBA: Área Metropolitana de Buenos Aires

AINE: Agentes antiinflamatorios no esteroides

ARN: Ácido ribonucleico

CDC: Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades

DENV: Virus del Dengue

DENV-1: Virus del Dengue serotipo 1

DENV-2: Virus del Dengue serotipo 2

DENV-3: Virus del Dengue serotipo 3

DENV-4: Virus del Dengue serotipo 4

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

ELISA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

FIS: Fecha de inicio de síntomas

INDEC: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos

IPSM: Instituto de Previsión Social de Misiones

LIRAA: Levantamiento de índice larvario de *Aedes Aegypti*

NEA: Noreste Argentino

NOA: Noroeste Argentino

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

RT-PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcripción Reversa

SE: Semana epidemiológica

SFAI: Síndrome Febril Agudo Inespecífico

SIVILA: Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica por Laboratorios de Argentina

SNVS: Sistema Nacional de Vigilancia en Salud

SISA: Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino

TBE: Tris-Borato-EDTA

IV: Índice de Vivienda

IB: Índice de Breteau

CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

El dengue es una de las enfermedades vectoriales de mayor importancia a nivel mundial debido a su alta prevalencia y amplia distribución. Es causado por un virus del género *Flavivirus* (Familia *Flaviviridae*) que se transmite a través de la picadura de un mosquito perteneciente al género *Aedes*, principalmente el *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), vector de la enfermedad (1,2).

Es una enfermedad infecciosa viral reemergente de gran potencial epidémico y curso autolimitado, endémica en regiones tropicales y subtropicales. Su endemicidad se extiende a más de 100 países en el sureste de Asia, América, el Pacífico occidental, África y las regiones del Mediterráneo oriental (**Figura 1**). En los últimos 50 años, su incidencia ha aumentado 30 veces con la creciente expansión geográfica hacia nuevos países y, en la actual década, de áreas urbanas a rurales (1,3).

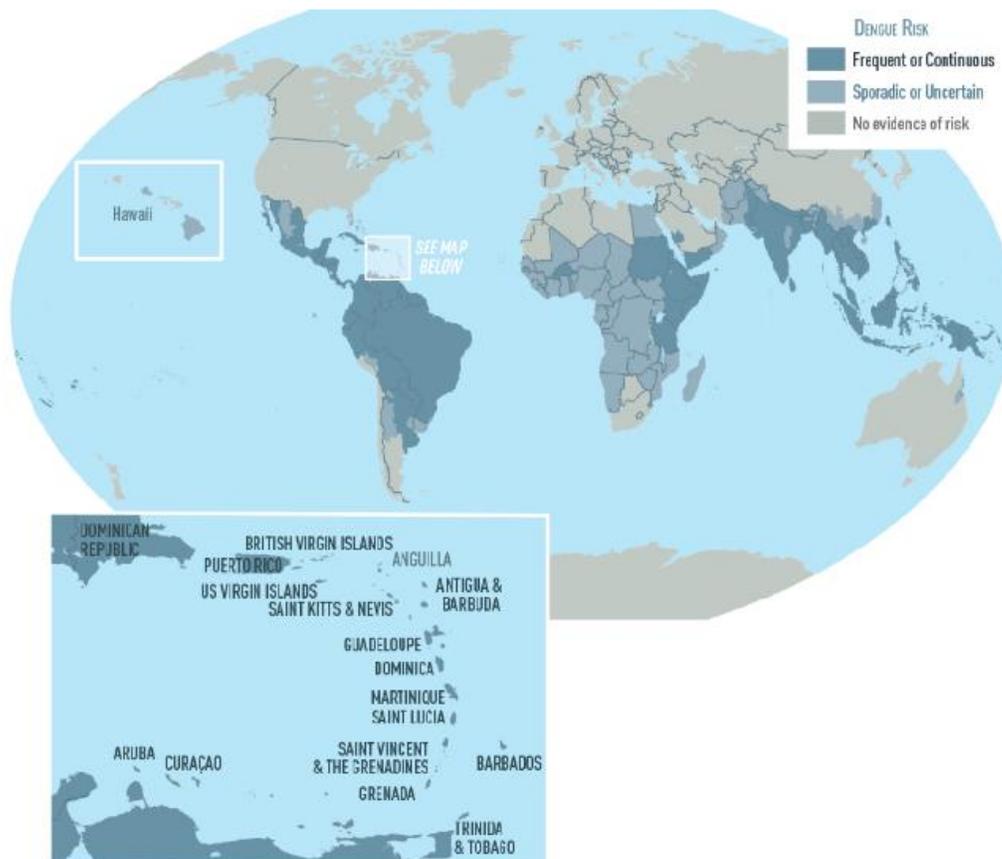


Figura 1. Carga global del Dengue, 2019 (4).

Su rápido surgimiento global está relacionado con los cambios demográficos y sociales de los últimos 50 a 60 años, que incluyen un crecimiento de la población sin precedentes, aumento que ha llevado a la formación de grandes conglomerados humanos que se conforman en áreas densamente pobladas, un aumento en el movimiento de personas (y, en consecuencia, del virus) debido a las mayores facilidades de transporte y características propias de la evolución del patógeno, como cambios en el medio ambiente que promueven su supervivencia y la susceptibilidad a la infección del hospedador (3).

En Argentina, el comportamiento del dengue es epidémico, y la ocurrencia de casos se restringe a los meses de mayor temperatura (noviembre a mayo), en estrecha relación con la ocurrencia de brotes en los países limítrofes (Brasil, Paraguay y Bolivia) (5).

La transmisión del dengue es el resultado de las interacciones entre personas, mosquitos, virus y factores ambientales. El movimiento humano local es un impulsor espaciotemporal importante de la dinámica de transmisión para la amplificación y propagación del virus del dengue (1,3).

1.1.1 Arbovirus

El 61% de las enfermedades emergentes y reemergentes, como el dengue, son enfermedades zoonóticas, que requieren la participación de un vector en su ciclo de transmisión que hace de intermediario entre los huéspedes vertebrados. Los virus que son transmitidos con estas características son llamados con el acrónimo arbovirus (del inglés *arthropod borne viruses*). Éstos no conforman una categoría taxonómica sino que agrupan a un variado grupo de virus transmitidos por artrópodos como mosquitos, garrapatas y tábanos. Este modo de transmisión requiere de tres participantes: el vector, el virus y el vertebrado (6).

Los arbovirus pueden presentar dos ciclos de transmisión, uno selvático que permite mantener al virus en la naturaleza y ocurre entre el vector y el huésped no humano; y otro urbano, donde el hospedador es el hombre. Por algún evento se produce un cambio que le permite a los virus con ciclos selváticos presentar también ciclos urbanos (**Figura 2**). Algunos arbovirus pueden perder o prescindir de su característica zoonótica para amplificarse, convirtiéndose así en arbovirus que presentan su ciclo principalmente en

humanos (ciclos urbanos), quien actúa ahora como huésped amplificador. Este es el caso de virus como el dengue, que presenta ciclos humano-vector-humano que resultan en alta viremia por lo que adquieren la capacidad de transmitirse eficazmente y causar grandes epidemias (7).

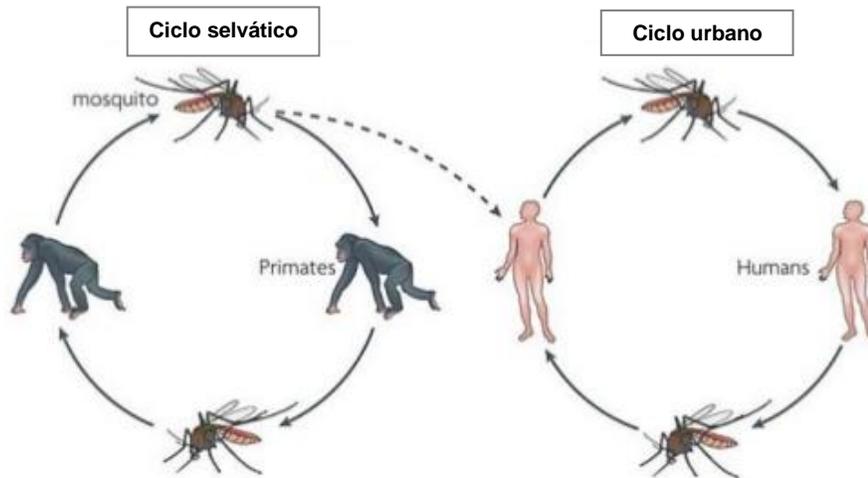


Figura 2. Ciclo urbano y selvático del virus Dengue (8).

1.1.2 El vector

La transmisión del virus Dengue se produce por la picadura de las hembras de mosquitos del género *Aedes* (familia *Culicidae*), principalmente el *A. aegypti*. Siendo este uno de los vectores más eficientes para los arbovirus debido a que es muy antropofílico, frecuentemente pica varias veces antes de completar la oogénesis y prolifera en estrecha proximidad a los seres humanos (1).

Este mosquito tiene hábitos típicamente domiciliarios y diurnos (presenta su mayor actividad a primeras y últimas horas del día), por lo que la transmisión es predominantemente doméstica y afecta principalmente a las poblaciones urbanas (9).

Cuando las condiciones son propicias, el mosquito no suele desplazarse a más de 100 metros de los sitios de oviposición, pero, eventualmente bajo condiciones artificiosas puede reconocerse un rango de dispersión activa de hasta 1 o 2 kilómetros. La dispersión pasiva a través de medios de transporte es uno de los factores más importantes de diseminación de estos mosquitos y del virus dengue de una región a otra (5,9).

Los sitios de cría del vector son fundamentalmente artificiales: urbanos (en baldíos, cementerios, desarmaderos, basurales) o domésticos (neumáticos, floreros, botellas, bebederos de animales, latas abiertas o contenedores de cualquier tipo, depósito de agua de bebida, cisternas, vasijas, y todo tipo de recipientes en desuso que pueda contener agua); aunque también existen criaderos naturales como los huecos y axilas de plantas (10).

La hembra, además de fitófaga como el macho, es hematófaga ya que necesita la proteína hemoglobina para la oviposición. Pone entre 50 y 150 huevos repartidos en distintos sitios y puede oviponer cada 3 o 4 días. Deposita los huevos en las paredes de recipientes que contienen agua, por encima del nivel de la misma. El desarrollo embrionario tarda entre 2 y 3 días si el ambiente es húmedo y cálido, pero a temperaturas más bajas puede extenderse unos días más. Cuando los huevos eclosionan surgen los estadios inmaduros acuáticos (pupa - crisálida) para luego desarrollarse el adulto. Si las condiciones de temperatura y alimentación son óptimas, en 10 días aproximadamente se completa el ciclo de huevo a adulto (11) (**Figura 3**).

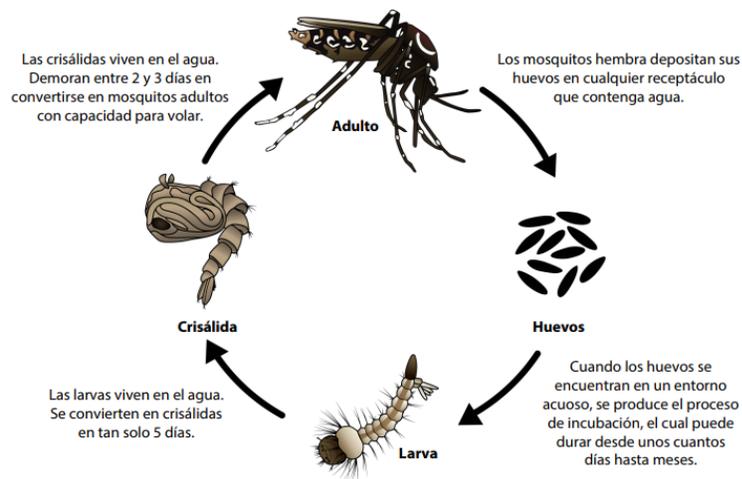


Figura 3. Ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti* (11).

El mosquito adulto es de coloración oscura, con franjas plateadas en sus patas y dorsalmente una estructura en forma de lira, también plateada, sobre el tórax (**Figura 4**).

Un mosquito adulto puede vivir entre 4 y 6 semana, y los huevos pueden resistir condiciones de sequía por más de un año (9).



Figura 4. *Aedes aegypti* picando a un humano (2).

En América solamente ha sido demostrada la transmisión del dengue a través del *A. aegypti*, introducido durante la colonización, cuando los barcos de esclavos traían toneles con agua y juntaban agua de lluvia durante el camino, donde se desarrollaba el mosquito (12). El *Aedes albopictus* (Skuse, 1895), relacionado a la transmisión de la enfermedad en otros continentes, principalmente el continente asiático, sólo es un vector potencial en las Américas. Éste mantendría el ciclo en el ambiente silvestre incluyendo a los monos como reservorios (5).

En Argentina, el *A. aegypti* se distribuye actualmente desde el norte del país hasta las provincias de Buenos Aires, La Pampa y Mendoza. Por su parte, el *A. albopictus* se ha encontrado en Misiones y Corrientes, sin embargo no ha sido asociado a la transmisión de dengue en estas provincias (5).

1.1.3 Agente Etiológico

El virus del Dengue (DENV) pertenece al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*. Es un virus de aproximadamente 50 nm, conformado por la envoltura viral – obtenida de las células del huésped -, que contiene la nucleocápside icosaédrica de 30 nm de diámetro. La envoltura del virión presenta proyecciones superficiales compuestas de proteínas

estructurales de la envoltura (E) y de la membrana (M). Estas proteínas forman una capa externa protectora que controla la entrada del virus en las células humanas. El interior del virus contiene el complejo riboproteico conformado por la proteína de la cápside y el genoma viral (13,14) (**Figura 5**).

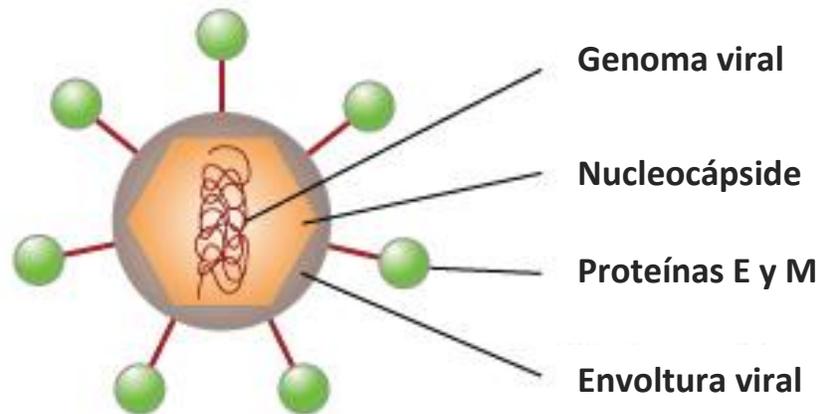


Figura 5. Estructura del virus del dengue (Adaptado de © 2011 Nature Education).

El genoma viral está constituido por una hebra sencilla de ARN de polaridad positiva, de aproximadamente 11 kb, que presenta un único marco abierto de lectura, dando origen a una única poliproteína que luego es clivada, co- y postraduccionalmente, por proteasas virales y celulares para dar origen a diez proteínas maduras. En su extremo 5' presenta una estructura tipo caperuza (cap), mientras que en su extremo 3' carece de cola poli A. En su lugar, en el extremo 3' presenta una estructura de “tallo y burbuja” estable y conservada en todos los miembros de la familia (15,16).

El ARN genómico es infeccioso, como en todos los virus de genoma de cadena positiva, y se compone de tres genes que codifican para tres proteínas estructurales: la proteína de la nucleocápside o *core* (C), una proteína asociada a la membrana (prM/M) y una proteína de la envoltura (E), localizado en el extremo 5' del genoma; y 7 genes que codifican para proteínas no estructurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5), en el extremo 3' (17) (**Figura 6**). La glicoproteína E desempeña un papel fundamental

durante la penetración del virus en la célula y en la respuesta inmunitaria. Por su parte, la proteína no estructural NS1 participa en la maduración viral y es utilizada para el diagnóstico temprano (18).

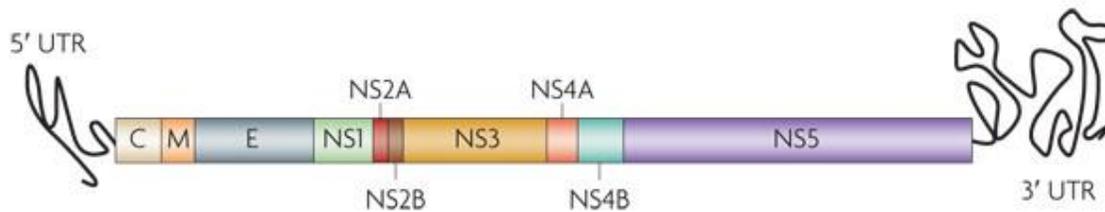


Figura 6. Genoma del Virus Dengue (19).

Su genoma codifica para una ARN polimerasa dependiente de ARN sin actividad de corrección, lo que lleva a altas tasas de sustitución, rápida divergencia, y la existencia de al menos cuatro serotipos (DENV1 - 4), filogenética y antigénicamente diferentes (20–22).

Los diferentes serotipos comparten una identidad de aminoácidos limitada (alrededor del 60-75%) (17,19). A pesar de estas diferencias, cada serotipo causa síndromes casi idénticos en los seres humanos y circula en el mismo nicho ecológico (19).

Basado en la diversidad genética y la distribución geográfica, se han reconocido diferentes genotipos y clados dentro de cada serotipo del virus dengue, con una diferencia en sus nucleótidos no mayor al 6% en la unión de los genes E/NS1. Se ha determinado que la variación genética es mayor para el virus DENV-2 seguido de DENV-3, DENV-1 y DENV-4 (17,23).

Mediante el análisis de pequeñas secuencias genómicas que permiten detectar variaciones puntuales se ha demostrado la existencia de 5 genotipos diferentes para DENV-1 (24), 5 genotipos para DENV-2 (24,25), 2 genotipos DENV-3 (26) y 2 genotipos DENV-4 (27).

Las variaciones genéticas entre los distintos serotipos y dentro de ellos, son determinantes importantes de la aptitud viral diferencial, la virulencia y el potencial epidémico. Las cepas con una ventaja replicativa tanto en humanos como en mosquitos

pueden propagarse más rápidamente y con más éxito que las cepas con capacidades replicativas más bajas, y eventualmente podrían desplazar las cepas con una condición física más baja (23).

La genética viral también influye en las interacciones del virus con la respuesta inmune preexistente del huésped, así como la eficacia global de las respuestas inmunes antivirales del huésped. En consecuencia, los serotipos y clados particulares se han asociado con manifestaciones clínicas diferenciales y la gravedad de la enfermedad (17).

1.1.4 Transmisión del virus Dengue

La transmisión del virus del dengue es netamente vectorial, no existe el contagio de persona a persona, salvo contadas excepciones de transmisión vertical (de madre a recién nacido), descritas en la literatura científica (1).

El vector adquiere el virus al alimentarse de una persona infectada en período de viremia. Luego de un lapso de tiempo necesario para la incubación en el mosquito, denominado período de incubación extrínseca, éste permanecerá infectante el resto de su vida y con capacidad de infectar a individuos susceptibles (12).

Durante el período de incubación extrínseca, el virus replica en el intestino del mosquito y desde ahí migra a las glándulas salivales. Este proceso demora entre 8 y 10 días, y depende entre otros factores de la temperatura ambiental, siendo más rápido cuando éstas son elevadas. Las picaduras de mosquitos después de este período dan como resultado una infección, que podría ser promovida por las proteínas salivales del mosquito (5,19,28). La transmisión vertical (transovárica) en mosquitos, ha sido demostrada para los cuatro serotipos de DENV (28).

Cuando una persona susceptible es picada por un mosquito infectado, debe pasar un tiempo denominado período de incubación intrínseca, previo a que puedan aparecer las manifestaciones clínicas. Este período generalmente dura entre 5 y 7 días, con un rango de 3 a 14 días. Las manifestaciones clínicas de la infección por el virus dengue representan la compleja interacción del virus con el huésped (14) (**Figura 7**).

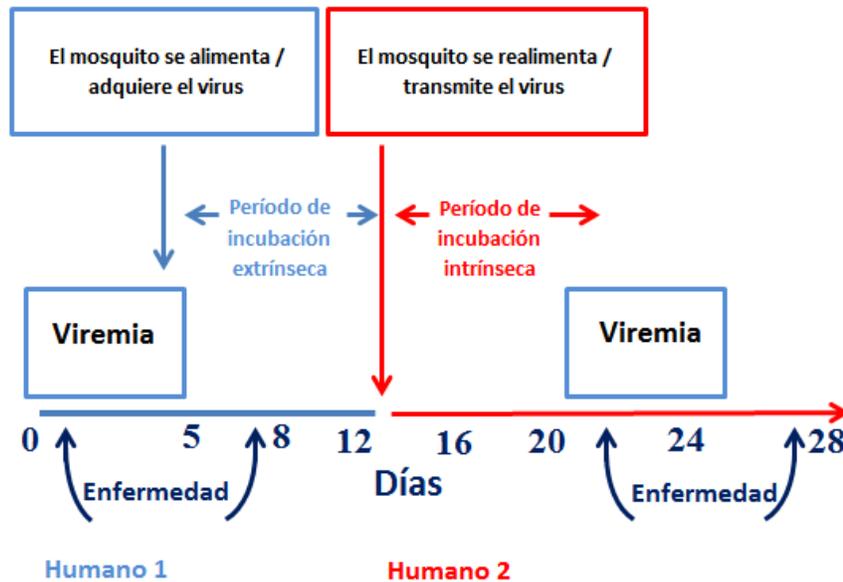


Figura 7. Tiempos de incubación y enfermedad causada por el DENV. Construido a partir de *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)* (10).

1.1.5 Clasificación de la enfermedad

Durante tres décadas, por recomendación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el dengue se clasificó en tres categorías: fiebre del dengue y fiebre hemorrágica por dengue, con o sin síndrome de shock por dengue. En los últimos años se ha cuestionado la utilidad clínica de esta clasificación, debido a que la misma resultaba tardía en el seguimiento de la evolución de la enfermedad, perdiendo la capacidad de prevenir el desarrollo a estadios avanzados (1).

Con el fin de encontrar una clasificación más adecuada que permitiera identificar precozmente los signos de alarma útiles para mejorar el manejo clínico de los casos, desde el año 2009, la OMS establece una nueva forma de clasificación clínica del Dengue, llamada Denco (Dengue Control), que diferencia cuadros de dengue grave y no grave, éste último a su vez segregado en dos grupos de acuerdo a la presencia o no de signos de alarma (1,5,29).

Se consideran signos de alarma, aquellos signos y síntomas presentes en pacientes un día antes de agravarse, los que permiten identificar tempranamente al enfermo que va a

evolucionar a dengue grave. Se debe tener en cuenta que las 48 horas posteriores al cese de la fiebre son las de mayor riesgo de aparición de complicaciones. Dentro de los signos de alarma se distinguen: dolor abdominal intenso y continuo, vómitos persistentes, derrame seroso (en peritoneo, pleura o pericardio), sangrado de mucosas, somnolencia o irritabilidad, hepatomegalia, incremento brusco del hematocrito concomitante con rápida disminución del recuento de plaquetas. Los casos de dengue sin signos de alarma pueden ser tratados de manera ambulatoria en caso de no presentar condiciones co-existentes (embarazo, diabetes mellitus, cardiopatías, etc.) o de riesgo social. Por otro lado, un paciente que presente signos de alarma debe ser hospitalizado (5).

1.1.6 Cuadro clínico

La infección por el virus dengue puede presentarse de forma sintomática o asintomática, siendo la mayoría de éstas asintomáticas o presentándose solamente con síntomas leves e inespecíficos (1,5).

Las infecciones sintomáticas pueden variar desde formas leves de la enfermedad, que sólo se manifiestan con un cuadro febril agudo, de duración limitada (2 a 7 días), a otros cuya fiebre se asocia a intenso malestar general, cefalea, dolor retro ocular, dolor muscular y dolores articulares. En no más del 50% de los casos, estos síntomas pueden acompañarse de un exantema pruriginoso, no patognomónico (5).

Algunos casos de dengue pueden evolucionar a formas graves (dengue grave) en las que hay manifestaciones hemorrágicas, pérdida de plasma debida al aumento de la permeabilidad vascular, (lo que ocasiona un incremento del hematocrito) y presencia de colecciones líquidas en cavidades serosas (derrame pleural, ascitis y derrame pericárdico), lo que puede llevar a un cuadro de shock por dengue (1,5).

Los casos de dengue grave son más frecuentes en personas que ya padecieron dengue por un serotipo (infección primaria) y se infectan nuevamente (infección secundaria) con un serotipo diferente al que le ocasionó el primer cuadro (Amplificación inmunológica de la infección mediada por anticuerpos) (16,29–31). Este fenómeno puede ocurrir hasta muchos años después de ocurrida la infección primaria, pero no implica necesariamente que toda infección secundaria conduzca a dengue grave. Hay estudios que indican diferencias en la

virulencia como factor determinante de la patogénesis de la enfermedad por DENV (16,24,25).

El dengue es una enfermedad sistémica y muy dinámica, ya que en pocas horas un paciente puede pasar de un cuadro leve a un cuadro grave. Las manifestaciones clínicas de la infección por DENV pueden dividirse en tres etapas: 1. Etapa febril, 2. Etapa crítica, 3. Etapa de recuperación (**Figura 8**). El diagnóstico viral apropiado y la evaluación de los signos de advertencia de progresión a enfermedad grave son críticos para el manejo efectivo del paciente (32).

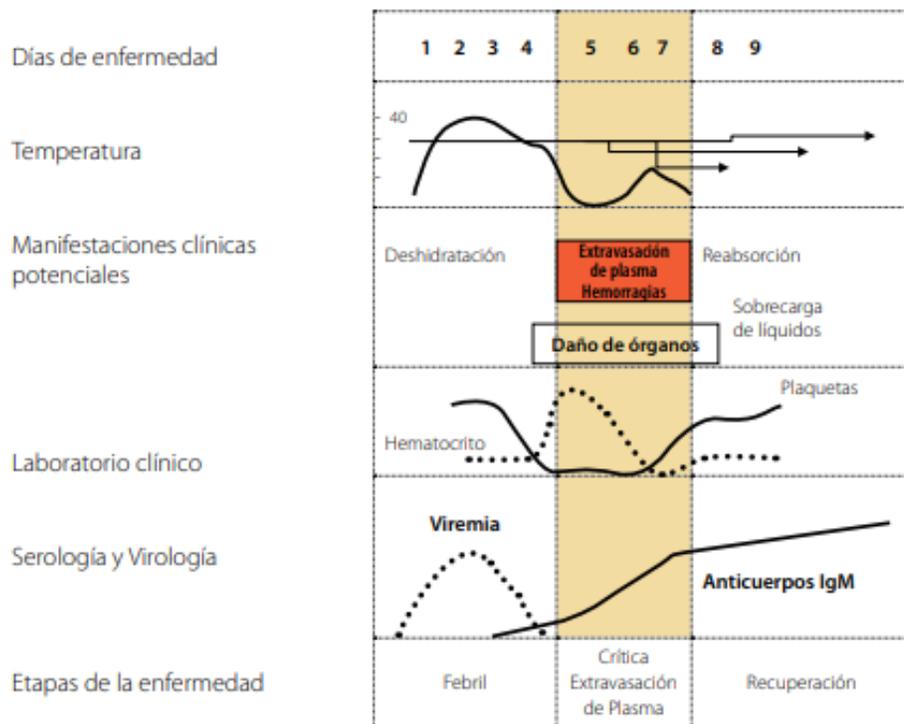


Figura 8. Etapas de evolución del Dengue: etapa febril, etapa crítica y etapa de recuperación (5).

La etapa febril es de duración variable (entre 3 a 6 días en niños y 4 a 7 días en adultos), y se asocia al período de viremia. Además de la fiebre, esta etapa puede ir acompañada de dolor muscular y articular, astenia, cefalea, exantema, prurito, dolor abdominal leve y, a veces, diarrea. Es frecuente la presencia de leucopenia con linfocitosis relativa, trombocitopenia e incremento de las transaminasas. A la caída de la fiebre, el enfermo

puede mejorar o empeorar. El empeoramiento es precedido por uno o más signos clínicos conocidos como signos de alarma, ya que anuncian la inminencia del shock (5,33).

El período que se inicia posterior a la caída de la fiebre y hasta 48 hs después se denomina fase crítica. La mayoría de los pacientes infectados con DENV se recuperan por completo después del período febril y no entran en esta fase de la enfermedad. La fase crítica se caracteriza por la extravasación de plasma (escape de líquidos desde el espacio intravascular hacia el extravascular), que puede llevar al shock hipovolémico (piel fría, pulso débil, taquicardia, hipotensión). Debido a la extravasación del plasma, el hematocrito sube, lo que constituye un método confiable para el monitoreo de la fuga de plasma. Este es el momento en el que, con mayor frecuencia, los enfermos pueden presentar complicaciones, ya que la extravasación de plasma se hace más intensa y es capaz de conducir al shock por dengue (5,32).

Las plaquetas pueden descender de forma progresiva desde la etapa febril, siendo más intenso el descenso en la etapa crítica. La plaquetopenia y trombocitopenia no se deben a un déficit de producción, sino a la destrucción masiva periférica por un mecanismo inmunomediado, de carácter transitorio. Una vez que los pacientes pasan el período crítico de 24-48 horas, la recuperación de la enfermedad puede ser notablemente rápida. Cuando las plaquetas comienzan a elevarse, indican que el paciente entra en la etapa de recuperación (5,33,34).

1.1.7 Patogenia y respuesta inmune

En la infección natural, el virus es inoculado por el mosquito vector en el espacio subcutáneo o intradérmico. Una vez en la dermis, los virus del dengue infectan células dendríticas inmaduras, denominadas células de Langerhans, donde inician su replicación. Las células dendríticas infectadas maduran y migran a los ganglios linfáticos locales o regionales, donde continúan su replicación (en células del linaje macrófago-monocito). Una vez que la infección se amplifica dentro de los ganglios linfáticos, el virus entra en la circulación, donde puede infectar monocitos circulantes, a través del sistema linfático eferente y el conducto torácico (fase virémica), de manera que la viremia es habitual y precede al inicio de los síntomas y en los 5 días siguientes (19). De este modo se facilita la

diseminación a órganos secundarios, donde también son las células del sistema fagocítico mononuclear las principales afectadas por el virus. Se han detectado antígenos de DENV en macrófagos de piel, hígado, glomérulo renal, timo, bazo, sangre y ganglios linfáticos (12,35).

Una vez establecida la infección en el huésped, las células expresan como primera línea de defensa el interferón (IFN) de tipo I (α y β), que busca inhibir la replicación viral. Por otro lado, se inicia el proceso de presentación de antígenos mediante el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de tipo I y II, lo que conlleva a que células como las NK (Natural Killer) ataquen a las células infectadas y liberen, junto a los linfocitos T, el IFN de tipo II (γ). Esta actividad es el fenómeno responsable del control de la infección, ya que se establece un estado antiviral mediado por IFN que evita la replicación del virus en las células infectadas o la infección de nuevas células. Además, esta señalización puede inducir la apoptosis de las células infectadas o alteradas (13).

Los epítopes ubicados en las proteínas prM, E y NS1 son los principales objetivos de los anticuerpos generados por el sistema inmune. La glicoproteína E es la hemaglutinina viral; induce la inmunidad protectora en el huésped y también determina la existencia de anticuerpos no neutralizantes de reacción cruzada entre Flavivirus (36).

Esta respuesta inmunitaria es la que normalmente se presenta en los pacientes infectados por primera vez que logran resolver la infección; sin embargo, en los pacientes que sufren una nueva infección con un serotipo diferente al de la primoinfección (frecuente en zonas endémicas donde circula más de un serotipo de DENV), ocurre un fenómeno que estimula y exagera la respuesta inmunitaria del paciente, mediante la formación de complejos inmunes entre DENV y anticuerpos no neutralizantes que se unen a los monocitos y macrófagos mediante los receptores Fc y favorecen la penetración del virus. Este mecanismo incrementa la proporción de células infectadas, la viremia y la capacidad de dispersión del virus en el organismo, lo que aumenta las probabilidades de desarrollo de dengue grave, con posibles manifestaciones hemorrágicas (18,30).

Esto explicaría por qué algunos pacientes con dengue grave poseen títulos virales más altos en comparación con los pacientes con dengue sin signos de alarma. Además, el

fenómeno de la potenciación de la infección dependiente de anticuerpos estimula la activación en células como linfocitos y macrófagos, induciendo la liberación de citocinas y otros factores solubles que alteran, entre otros aspectos, la fisiología del tejido endotelial, lo que facilita la extravasación y la formación de edemas, petequias y hemorragias (13,19,30,37).

Cuando una persona es infectada por el virus dengue, ésta generará inmunidad de por vida para ese serotipo (inmunidad homóloga) e inmunidad temporaria de alrededor de 6 meses para los demás serotipos (inmunidad heteróloga). Durante una infección primaria se generan linfocitos B y T (CD4 y CD8) de memoria tanto serotipo-específicas como con reactividad cruzada para otros serotipos (12).

Aunque, en teoría, una persona podría padecer dengue hasta cuatro veces a lo largo de su vida (una por cada serotipo), hasta el momento sólo se han comprobado hasta tres infecciones en un mismo individuo (5), y se ha descrito que aquellos que han experimentado infección previa son mucho más propensos a desarrollar enfermedad hemorrágica (30). Sin embargo, como se mencionó anteriormente, hay estudios que indican diferencias en la virulencia como factor determinante de la patogénesis de la enfermedad por DENV (38). Si bien cualquiera de los serotipos del virus Dengue puede producir formas graves de la enfermedad, los serotipos 2 y 3 han sido asociados a la mayor cantidad de casos graves y fallecidos (5).

1.1.8. Diagnóstico

Si bien los síntomas clínicos pueden dar sospecha de la enfermedad, el diagnóstico se confirma mediante análisis de laboratorio. Éste se puede realizar mediante técnicas directas, ya sea por aislamiento del virus en cultivo o mosquitos, la detección de ARN genómico viral, o detección de productos virales (captura y detección de la proteína NS1 secretada); o por métodos indirectos, mediante la detección de la respuesta inmune del huésped a la infección, a través de la medición de IgM e IgG específicas del virus. El momento de la aparición y la duración de estos biomarcadores en la infección primaria y secundaria por dengue se presentan gráficamente en la **Figura 9**. El suero es la muestra de elección aunque también se puede utilizar plasma, sangre entera o muestra de tejidos en casos fatales

(17,32). Recientemente se ha reportado la detección prolongada de ARN de virus dengue en una muestra de semen (39).

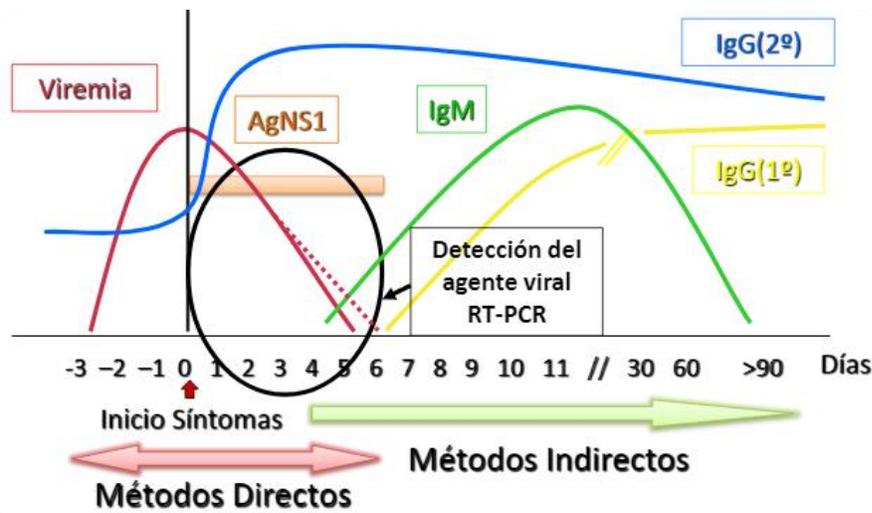


Figura 9. Viremia y cinética de Anticuerpos IgM e IgG en infecciones por virus Dengue (40).

Por otra parte, el hematocrito y el recuento de plaquetas son los exámenes de laboratorio clínico indispensables en pacientes con sospecha de dengue. La determinación del valor del hematocrito en la fase febril temprana establece la línea basal del paciente. Una disminución rápida del número de plaquetas junto con un hematocrito elevado en comparación con la línea basal sugiere el progreso hacia la fase crítica de la enfermedad o extravasación de plasma. El resto de los exámenes complementarios deben realizarse de acuerdo al cuadro clínico del paciente: coagulograma, proteínas totales, albúmina, ionograma, gasometría, urea, creatinina y transaminasas (1,32).

- **Aislamiento de virus**

El aislamiento viral puede realizarse en líneas celulares de mosquito (AP-61, Tra-284, AP64, C6/36 y CLA-1) o de mamífero (LLCMK2, Vero y BHK-21), o en mosquitos vivos. Las muestras tomadas de pacientes infectados que experimentan enfermedad febril hasta 5 días después del inicio de la enfermedad producen los resultados más exitosos. Si bien el

aislamiento del virus ha sido el método de diagnóstico tradicional para detectar la infección por DENV, ya que constituye el diagnóstico confirmatorio, gradualmente ha sido reemplazado por la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR) y, más recientemente, por los ensayos de inmunoabsorción enzimática (ELISA) de captura de antígeno NS1 para un diagnóstico más rápido (32).

- **RT-PCR**

Los métodos moleculares como la RT-PCR y la hibridación de ácido nucleico se han utilizado con gran efecto para diagnosticar con éxito la infección por DENV. Las técnicas basadas en PCR permiten la detección del ARN viral desde el inicio de la enfermedad; es más sensible, específico, rápido y menos costoso que los métodos de aislamiento de virus. Al igual que en el aislamiento, solamente se obtienen resultados exitosos en muestras obtenidas hasta el día 5 a partir del inicio de los síntomas (1,32,41).

- **Captura de antígeno NS1**

La proteína viral NS1 es un objetivo ampliamente utilizado para el diagnóstico de la infección por dengue, ya que es secretada por las células infectadas, se encuentra en altos niveles en la sangre circulante de personas infectadas y puede detectarse desde el inicio de los síntomas hasta 9 o 10 días en infecciones primarias.

El desarrollo comercial de NS1 como herramienta de diagnóstico ha revolucionado el diagnóstico de dengue, ya que permite la realización de ensayos simples y de baja tecnología que tienen alta sensibilidad y especificidad, convirtiéndose en el nuevo estándar para el diagnóstico del dengue al permitir un diagnóstico precoz y un manejo más eficaz del paciente (1,32).

- **Serología**

Los ensayos de inhibición de la hemaglutinación (HI) junto con los ELISA de captura de anticuerpos IgM e IgG han demostrado ser los métodos de diagnóstico serológicos más útiles para la detección de DENV de rutina. En las infecciones primarias, los anticuerpos de tipo IgM son detectables luego de cinco días desde el comienzo de la fiebre; mientras que los anticuerpos de tipo IgG se pueden detectar 10 a 15 días después del comienzo de la

fiebre. En las infecciones secundarias, los anticuerpos IgG ya son detectables al inicio de la fiebre y sus títulos son relativamente mayores a los de la primoinfección (32).

En áreas donde circula más de un Flavivirus (Ej., virus de la fiebre amarilla, virus de la encefalitis japonesa y, más recientemente, virus Zika), es importante tener en cuenta que la detección de la infección por DENV por serología puede presentar reactividad cruzada de la respuesta de anticuerpos, debido a los epítopes de reacción cruzada compartidos en la proteína E, dando lugar a falsos positivos. Para reducir estos resultados falsos positivos, la serología de IgM e IgG debe combinarse con la detección de antígeno NS1 (32).

La neutralización por reducción de placas y el aislamiento viral en cultivos celulares o por inoculación intratorácica de mosquitos, no suelen realizarse comúnmente y se utilizan principalmente en estudios de investigación epidemiológica. La neutralización, es la única técnica que permite la determinación del serotipo infectante en período no virémico (12).

Dada la cinética variable de cada biomarcador, no se puede usar un solo ensayo para confirmar el diagnóstico de DENV, ya que los pacientes pueden concurrir a la consulta médica en diferentes etapas de la infección. Se ha demostrado que combinar la detección de NS1 con la detección de IgM y/o IgG mejora sustancialmente el diagnóstico.

1.1.9 Tratamiento y prevención

Hasta el momento, no existen antivirales específicos para la enfermedad, sólo se realizan tratamientos de soporte que pretenden evitar la deshidratación, reducir la fiebre y evitar la evolución a casos graves. Para ello, es de suma importancia la realización de un diagnóstico certero y precoz. En algunos casos se puede requerir hospitalización para una mejor atención, principalmente en pacientes con signos de alarma. En cuanto al manejo de los enfermos, se recomienda reposo, administrar analgésicos como el paracetamol y evitar la administración de ácido acetil-salicílico (aspirina), ibuprofeno u otros agentes antiinflamatorios no esteroides (AINE) ya que estos medicamentos pueden agravar la gastritis o el sangrado. Además, el ácido acetil-salicílico (aspirina) puede asociarse con el Síndrome de Reye (1,10).

En 2015 se licenció la primera vacuna contra la dengue llamada Dengvaxia (CYD-TDV), autorizada para su uso en personas de 9 a 45 años de edad que viven en áreas endémicas. Se trata de una vacuna tetravalente a virus vivo atenuado y recombinante, desarrollada por Sanofi Pasteur, que se aplica en tres dosis en un intervalo de 0, 6 y 12 meses (42). Cada recombinante monovalente se obtiene por separado sustituyendo los genes que codifican las proteínas prM y E del genoma del virus atenuado de la fiebre amarilla con los genes correspondientes de los cuatro serotipos de DENV salvaje (43). Si bien la vacuna contiene antígenos de los cuatro serotipos de DENV, no presenta igual efectividad en todos ellos, siendo mayor para DENV-3 y DENV-4 (mayor al 70%), mientras que para los serotipos DENV-1 y DENV-2 es solamente del 40 - 50%. A su vez, esta efectividad varía en los distintos receptores según edad y exposición previa a la enfermedad (42,43).

Dengvaxia ha demostrado en ensayos clínicos que es eficaz y segura en individuos seropositivos, pero aumenta el riesgo de dengue grave en aquellos que experimentan su primera infección natural por dengue después de la vacunación (individuos seronegativos). Por lo que la estrategia recomendada para los países que consideran la vacunación como parte de su programa de control del dengue, es la detección de la prevalencia de la infección previa por dengue. Sólo si el examen previo a la vacunación no es factible, la vacunación sin detección individual podría considerarse en áreas con documentación reciente de tasas de seroprevalencia de al menos 80%. Asimismo, se recomienda la utilización de la vacuna en el marco de un exhaustivo control de vector, cuidados clínicos de buena calidad en pacientes con dengue, una intensa vigilancia y sistemas de seguimiento de la vacunación (43,44).

Actualmente, las estrategias de prevención de la infección están dirigidas principalmente al control del vector. Se recomienda eliminar todos los recipientes donde puede acumularse agua de lluvia; cubrir, vaciar y limpiar regularmente los recipientes donde se almacena agua para uso doméstico (agua de las mascotas, floreros, colectores de desagües de aire acondicionado o lluvia); tapar los tanques o depósitos de agua y mantener los patios y jardines desmalezados. Durante los brotes epidémicos, las medidas de lucha antivectorial de emergencia pueden incluir la aplicación de insecticidas mediante

rociamiento. Para el cuidado personal es importante colocar mosquiteros en las ventanas y utilizar repelentes que contengan DEET (N,N-Dietil-3- metilbenzamida), así como ropa clara y de manga larga cuando sea posible (45). Es imprescindible que estas acciones sean sostenidas en el tiempo con el objeto de tener verdadero carácter preventivo y disminuir notablemente el riesgo de ocurrencia de brotes. Es muy importante el trabajo conjunto entre los sistemas de salud y la población general para lograr una mayor eficiencia a nivel local y regional (46).

1.2 ALCANCES Y DEFINICIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El dengue es la enfermedad viral más importante transmitida por artrópodos en los seres humanos por su alta morbimortalidad y el potencial de diseminación de su vector (29). Se estima que en la actualidad, aproximadamente 390 millones de personas tienen infecciones por el virus dengue, y anualmente ocurren alrededor de 96 millones de casos en todo el mundo, más de tres veces la estimación de la OMS en 2012 (1,17,47). Además, el 40% de la población mundial vive en áreas con transmisión del virus, siendo más de 2.5 billones las personas que se encuentran en riesgo de infección (3,47). Si bien son pocos los casos que progresan a cuadros graves por la enfermedad, aproximadamente 1/2000 casos resultan en la muerte (10).

El dengue ha evolucionado de una enfermedad esporádica a un problema importante de salud pública con efectos sociales y económicos sustanciales debido al aumento de la extensión geográfica, el número de casos y la gravedad de la enfermedad (17). Se estima que para el año 2085 el cambio climático pondrá a 3.5 billones de personas en riesgo (9).

Antes de 1970, sólo nueve países en el mundo habían sufrido epidemias de dengue grave (3). En las Américas, aunque los cuatro serotipos del Dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4) han circulado siempre causando enfermedad leve y esporádicos casos de dengue grave, solo hasta 1981 ocurrió en Cuba la primera gran epidemia de Dengue hemorrágico en la región, reportándose 10.312 casos severos y 158 casos fatales; la rápida propagación de la enfermedad llevó a epidemias posteriores en Jamaica (1981-1982), Venezuela (1989-1990) y Brasil (1990), hasta extenderse en gran parte de Centro y Suramérica (16).

Actualmente, la enfermedad es endémica en más de 100 países de las regiones de África, el Mediterráneo Oriental, las Américas, Asia Sudoriental y el Pacífico Occidental, siendo las tres últimas las regiones más gravemente afectadas. A partir del año 2008 se observó una tendencia ascendente de las formas graves de dengue. A finales de 2008 en los países americanos se han registrado 854.134 casos de dengue, con 38.627 casos de dengue grave y 584 muertes (tasa de letalidad de 1,5%) (3,9,48). En 2015, se notificaron 2,35

millones de casos tan solo en territorio Americano, de los cuales más de 10.200 casos fueron diagnosticados como dengue grave y provocaron 1.181 defunciones (49).

En las Américas, se ha observado un aumento significativo en la incidencia del dengue en las últimas dos décadas, donde la mayoría de los países limítrofes de Argentina han informado la circulación conjunta de varios serotipos. La cocirculación de más de un serotipo en el país y la existencia de población susceptible al virus, así como la existencia de condiciones favorables para el desarrollo de *A. aegypti*, implican un gran riesgo para la ocurrencia de brotes epidémicos de dengue y casos de dengue grave (3,9).

La dramática propagación global y el aumento de la frecuencia y la magnitud del dengue epidémico en los últimos 50 años subraya la necesidad crítica de una vigilancia más eficaz, incluidas mejores herramientas (50).

En Argentina, la vigilancia de las arbovirosis se realiza de forma integrada, en el marco de la vigilancia de Síndrome Febril Agudo Inespecífico (SFAI) y de los casos con sospecha de Zika, y la notificación se realiza a través del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud en su versión 2.0 (SNVS 2.0). La vigilancia integrada de arbovirosis incluye el estudio de Dengue, Zika, Chikungunya, Fiebre Amarilla, Encefalitis de San Luis y Fiebre del Nilo Occidental; así mismo, la vigilancia del SFAI integra patologías como hantavirosis, leptospirosis y paludismo de acuerdo con el contexto epidemiológico del área y de los antecedentes epidemiológicos (51).

En 2016, se notificaron al SNVS 76.272 casos con sospecha de dengue entre confirmados, probable, en estudio y descartados en las 23 provincias, de los cuales 40.649 correspondieron a casos autóctonos probables o confirmados -por laboratorio o nexo epidemiológico- en 15 jurisdicciones del país (52), y 10 casos fallecidos con diagnóstico de dengue (53). Mientras que en la provincia de Misiones, se notificaron 22.975 casos con sospecha de dengue, de los cuales 21.484 corresponden a casos autóctonos (54).

Si bien el dengue es un problema creciente para la Salud Pública mundial, es particularmente grave en esta región del nordeste de Argentina debido a varios factores. Por un lado, tenemos un aumento de la población en áreas urbanas de ocurrencia rápida y desorganizada, hecho que caracteriza a los municipios de mayor densidad de Misiones. Por

otro lado, las condiciones climáticas favorecen el desarrollo del vector, ya que presenta un clima tropical húmedo, sin estación seca, con altos registros pluviométricos (entre 1.700 mm anuales al Sudoeste hasta los 2.200 mm anuales hacia el Este) y temperaturas que oscilan entre los 19°C y 29°C, alcanzando temperaturas de 44°C durante el día, en verano (55,56). Éste hecho convierte a la provincia, y particularmente a Posadas, en un ambiente propicio para el desarrollo del vector, ya que las lluvias abundantes favorecen la deposición de agua en recipientes expuestos a la intemperie y la formación de espacios de agua estancada donde se reproduce el vector, y las altas temperaturas acortan los ciclos de proliferación del mosquito (9,10). Podemos sumar a esto la modificación del bioma por la gran deforestación y la quema frecuente para llevar a cabo prácticas agrícolas (actividad económica primaria), lo que trajo como consecuencia inundaciones en los últimos años, ya que las zonas deforestadas no tienen cómo parar los grandes caudales que generan las lluvias (57).

En Septiembre de 2015, el Levantamiento de Índices Rápidos de *Aedes aegypti* (LIRAA) en la capital misionera arrojó como dato que 10 de cada 100 viviendas tenían criaderos positivos de *A. aegypti*, y 16 de cada 100 viviendas en Abril de 2016, un hecho realmente preocupante (Sala de Situación en Salud de la Municipalidad de Posadas, comunicación personal).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general:

Describir las características clínico-epidemiológicas de los pacientes de la obra social IPSM afectados por el virus Dengue en la ciudad de Posadas en el año 2016 y detectar los serotipos circulantes en la región.

1.3.2 Objetivos específicos:

- ✓ Identificar la proporción de pacientes con presencia del antígeno NS1, y de anticuerpos IgM e IgG mediante la técnica de ELISA en el período agudo y convaleciente de la enfermedad.
- ✓ Determinar los valores de hematocrito y el recuento de glóbulos blancos y plaquetas en período agudo de la enfermedad.
- ✓ Determinar los serotipos circulantes del virus Dengue mediante la amplificación de un fragmento de los genes C-prM a través de una *nested* RT-PCR.
- ✓ Describir las características clínico-epidemiológicas de los pacientes en estudio y analizar su asociación con los resultados de laboratorio.

1.4 JUSTIFICACIÓN

La realización de este trabajo permite mejorar conocimientos epidemiológicos sobre los serotipos circulantes del virus Dengue en el departamento Capital, cuáles son las áreas de mayor impacto de la enfermedad en este municipio, y las características clínico-epidemiológicas de la población de afiliados a la obra social del IPSM residente en la ciudad de Posadas, afectada por la infección. Se estima que los afiliados representan aproximadamente el 30% de la población del departamento Capital. Este organismo ofrece cobertura sanitaria a los agentes estatales de la provincia y de los municipios de Misiones, a sus familiares, en carácter de adherentes, y a los jubilados provinciales.

Esta información contribuye a optimizar las acciones preventivas frente a brotes de dengue, sustentadas fundamentalmente en el diagnóstico temprano y en las intervenciones definidas como de búsqueda activa de febriles y bloqueo de casos sospechosos, que sumados al control focal reducen la presencia del insecto vector, logrando de este modo disminuir la probabilidad de transmisión y propagación de la enfermedad (58).

Si bien las inversiones en el desarrollo de vacunas y las nuevas medidas de control de vectores han aumentado exponencialmente en la última década, aún no existe un tratamiento específico, por lo que el reconocimiento precoz de los signos de alarma y el control laboratorial resulta fundamental para detectar a los casos graves y ofrecerles tratamiento de soporte en forma rápida y oportuna (59). Se ha observado que la detección temprana y la terapia de reemplazo de líquidos, y el uso de analgésicos y antipiréticos con buena atención de enfermería, aseguran una marcada reducción de las tasas de mortalidad (del 20% a menos del 1%) (50).

Uno de los principales problemas en el manejo del dengue es la dificultad para distinguir tempranamente esta arbovirosis de otras causas de síndrome febril agudo (58). Considerando la baja especificidad de los síntomas para la vigilancia epidemiológica del dengue, se ha hecho énfasis en la identificación del virus por aislamiento, del genoma por métodos moleculares, y la detección de anticuerpos específicos por técnicas inmunológicas. Estas técnicas combinadas con parámetros bioquímicos, como hematocrito y recuento de plaquetas y glóbulos blancos, permitirían un diagnóstico temprano para establecer pautas de

manejo de los casos y optimizar intervenciones clínicas, tanto para un contexto de brote o casos aislados (58).

Las técnicas moleculares utilizadas en este trabajo permiten detectar y conocer los serotipos circulantes al inicio de los períodos de brotes, así como también la introducción de un serotipo diferente. Esto permite optimizar intervenciones y analizar los riesgos de ocurrencia de casos graves de dengue en zonas donde se han producido brotes epidémicos previos por otros serotipos del virus, ya que en pacientes que sufren una nueva infección con un serotipo diferente al que causó primoinfección, ocurre un fenómeno que estimula y exagera la respuesta inmunitaria del paciente, lo que aumenta las probabilidades de que desarrolle dengue grave, con posibles manifestaciones hemorrágicas (5,49). Este no es un dato menor, considerando que la provincia de Misiones limita en gran parte de su territorio con Brasil y Paraguay, países donde se ha detectado la circulación de más de un serotipo viral, estando expuesta al ingreso de otro serotipo, como ocurrió con el DENV-4, detectado en la provincia en el año 2019 (51).

CAPÍTULO II

2.1 ANTECEDENTES

La historia del DENV en el continente americano se puede dividir en cuatro períodos: Introducción del DENV en las Américas (1600-1946), plan de erradicación del *A. aegypti* (1947-1970), re-infestación del *A. aegypti* (1971-2000), y el incremento en la dispersión del *A. aegypti* y circulación del DENV (2001-2010) (60).

En las Américas, esta enfermedad fue erradicada en 1960, quedando solo algunos focos en el Caribe y en las selvas sudamericanas. Sin embargo, el dengue reemergió en Jamaica en 1963, luego en Cuba y en el resto del Caribe (18).

En 1947 la Organización Panamericana de la Salud (OPS) comenzó una intensa campaña para controlar la transmisión de la fiebre amarilla, que permitió la erradicación del *A. aegypti* en la mayoría de los países en América, exceptuando Cuba, Estados Unidos, Surinam, Venezuela y diferentes islas del Caribe (1). El éxito de estas campañas logró también reducir de forma significativa la transmisión del Dengue; sin embargo, a medida que se deterioraron las campañas de erradicación durante las décadas de 1970 y 1980, debido a la pérdida de importancia política en la mayoría de los países que habían logrado la erradicación (60), el mosquito proliferó y se propagó por casi todo el territorio americano (16), incluso en áreas donde no se había reportado previamente, o donde no se había controlado totalmente, reapareciendo la transmisión del virus dengue en al menos 43 países de la región (49).

En 1981 se reporta en Cuba la primera gran epidemia de dengue grave en la región causada por DENV-2, genotipo III. Este brote se considera uno de los peores en este período debido a la cantidad de casos, muertes y costos de control. Además, en 1981, el DENV-4, genotipo I, se introdujo en las islas del Caribe oriental y posteriormente se expandió al resto del Caribe, México, Centroamérica y Sudamérica, lo que causó en muchos casos epidemias en países que habían experimentado brotes por DENV-1. A partir de ese momento, el dengue ha tenido un comportamiento endemo-epidémico, con brotes cada 3-5 años (60).

2.1.1 Situación en la Argentina

En Argentina, el mosquito vector que había sido aparentemente erradicado, reapareció a fines de la década de 1980 y se extendió a todas las áreas subtropicales del país; lo que trajo a consecuencia, la re-emergencia del dengue en la Argentina en 1998, produciéndose brotes con casos autóctonos en Salta, Jujuy, Misiones, Formosa, Corrientes y casos importados en otras provincias como Tucumán, Córdoba y Buenos Aires (1).

Desde la reintroducción del virus, el dengue se ha presentado en forma de brotes esporádicos relacionados con la situación epidemiológica de los países limítrofes; y está restringido a los meses de mayor temperatura en el hemisferio sur (Noviembre a Mayo) (5).

Durante el primer semestre de 2009, Argentina experimentó un brote de dengue causado por DENV-1 con más de 26,000 casos confirmados y cinco muertes. Por primera vez en Argentina, hubo muertes causadas por el dengue y en infecciones primarias (60). A partir de la epidemia del año 2009, Argentina pasó de tener 5 provincias con casos autóctonos a tener 14 provincias que revisten esta categoría: Salta, Jujuy, Tucumán, Catamarca, Santiago del Estero, La Rioja, Córdoba, Buenos Aires, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Chaco, Formosa y Santa Fe. Durante los brotes se han identificados los serotipos DENV-1, DENV-2 y DENV-3. No obstante, el mapa en el que se registra la presencia del vector es aún más amplio que el de la enfermedad, incluyendo las provincias de Mendoza, San Luis y La Pampa (1).

En 2010 se detectó la presencia de DENV-4 en la ciudad de Rosario, donde además circulaban DENV-1 y DENV-2, siendo el primer reporte de este serotipo en el país. El caso de DENV-4 no presentó antecedentes de viaje previos al inicio de los síntomas (61).

En 2016, se registraron brotes de dengue con transmisión sostenida en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Corrientes, Chaco, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán (52,53). En la **Figura 10** se puede observar la tasa de notificación por 100.000 habitantes según Departamento en estas provincias.

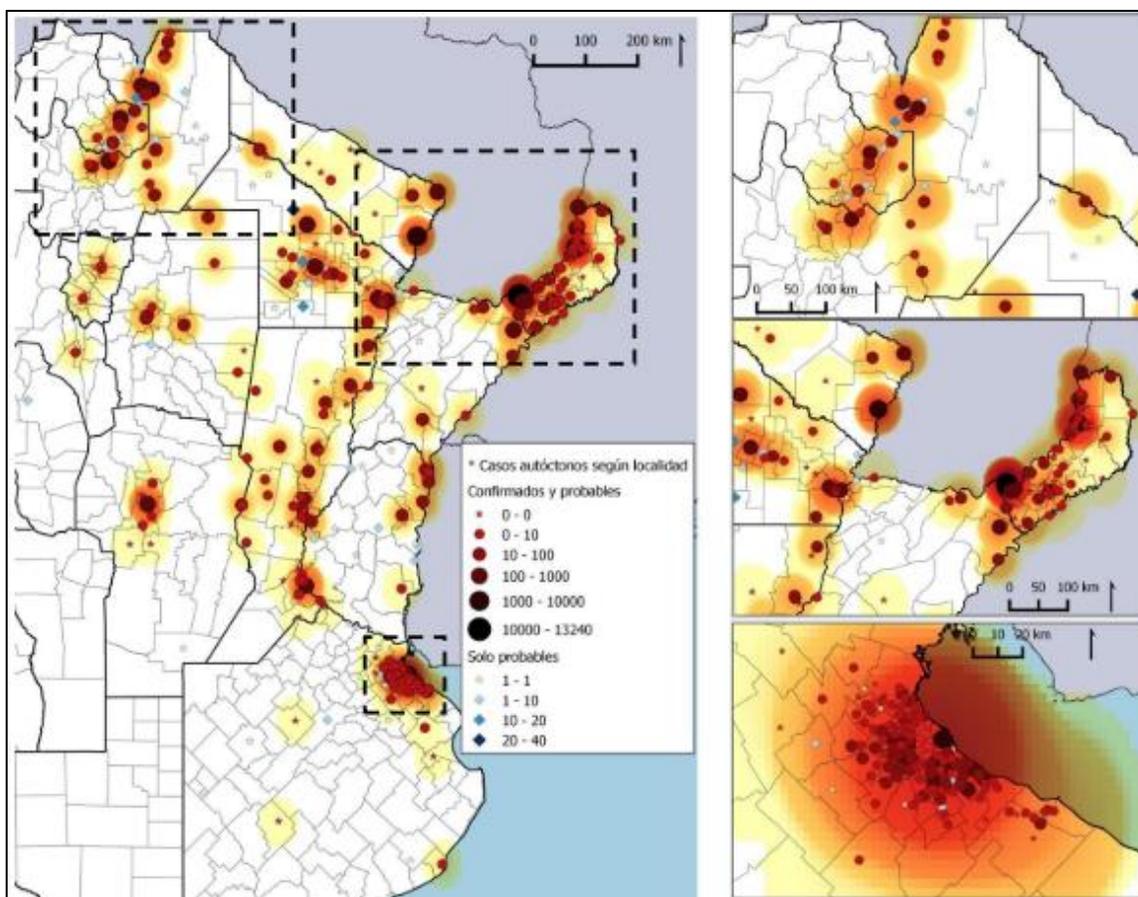


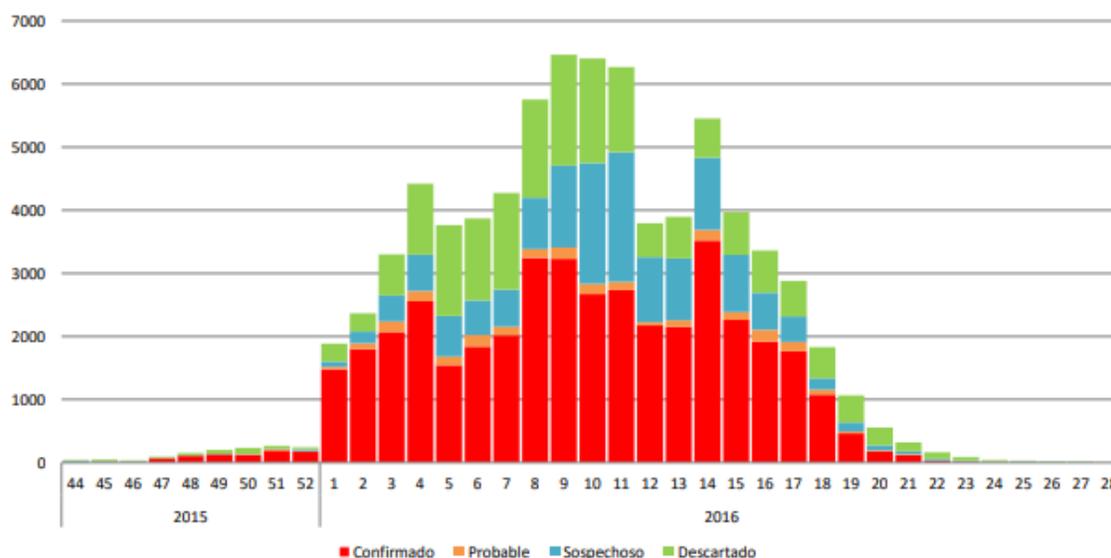
Figura 10. Casos autóctonos confirmados y probables según Localidad y tasa de notificación por 100.000 habitantes según Departamento de residencia. Argentina y detalle en NOA, NEA y AMBA. SE1 a 16 de 2016 (62).

En las primeras 28 semanas del año 2016 (03/01 al 16/07) se notificaron al Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS) un total de 76.272 casos con sospecha de dengue entre confirmados, probable, en estudio y descartados en las 23 provincias, de los cuales 40.649 correspondieron a casos autóctonos probables o confirmados -por laboratorio o nexo epidemiológico- en 15 jurisdicciones del país, y 2.682 casos con pruebas positivas importados en 23 provincias (52). Se produjeron en ese período 10 casos fallecidos con diagnóstico de dengue (53).

Los casos acumulados en este período superaron en un 50,98% a los registrados en el 2009 para el mismo período. En el año 2009 el pico de casos se dio entre las semanas 14 y 16, y el ascenso del número de casos se verificaba desde las semanas 5-6, mientras que en

el brote del 2016 el aumento del número de casos comenzó hacia fines de 2015 y se pueden reconocer 3 picos, que corresponden a las semanas 4, 9 y 14, con un marcado descenso en el número de casos luego de esta última, y sin registro de casos autóctonos positivos desde la semana 25 (52,53) (**Gráfico 1**).

Gráfico 1. Distribución de casos de dengue notificados en el SNVS por semana epidemiológica según su clasificación. SE 44/2015 a 28/2016. Argentina. (N=77.586).



Área de Vigilancia de la Salud de la Dirección de Epidemiología en base a información proveniente del Sistema (52).

Durante el brote, circularon en el país los serotipos DENV-1 y DENV-4, pero en magnitud y extensión muy diferentes: más del 98% correspondió al DENV-1, mientras que el serotipo DENV-4 tuvo una circulación de baja intensidad, habiéndose identificado en Buenos Aires, Salta, Jujuy y Santa Fe (53).

La situación epidemiológica en Argentina, se encuentra en estrecha relación con lo que ocurrió en los países limítrofes:

- En 2015, Paraguay registró más 16.000 casos confirmados de dengue. Y en el 2016, hasta la SE49, se registraron 99.886 casos de síndrome febril, de los cuales se confirmaron

2.542 casos de dengue, y 70.203 se clasificaron como probables. En este país, detectó la circulación de los virus DENV-1, DENV-2, y DENV-4 (53).

- En Brasil, en 2015 fueron afectadas por el virus 1.638.058 personas. Así mismo, señalaron que el 68,5% de las muertes se localizaron en la región sudeste del país, que comprende los estados de Sao Paulo, Río de Janeiro, Minas Gerais y Espírito Santo, siendo el estado de São Paulo el más afectado con una tasa de 1.516 casos por cada 100.000 habitantes (63). En 2016, hasta la SE49, fueron notificados 1.487.673 casos probables en todo el país, cifra inferior en un 9% a la registrada en el 2015 hasta la misma SE. Se confirmaron 609 fallecidos por dengue, lo que representa una reducción del 37% con respecto al mismo periodo 2015 (972 óbitos). Se detectó la circulación de los 4 serotipos del virus dengue (53).

En Argentina, en los años posteriores a 2016 se observó un marcado descenso en el número de casos con sospecha de dengue notificados al SIVILA (actualmente Sistema Integrado de Información Sanitaria - SISA) (64,65).

Durante el año 2017, se registraron en Argentina 555 casos autóctonos, 450 ocurrieron en el contexto de brotes y los 105 restantes fueron casos aislados (54). En el primer semestre del año 2017 se registraron brotes de dengue serotipo DENV-1 en 5 provincias (Buenos Aires, Chaco, Corrientes, Formosa y Santa Fe). El serotipo hallado fue predominantemente DENV-1, y además se identificaron los serotipos DENV-2 y DENV-3 (54).

En 2018, se registraron en el país 1.808 casos positivos para dengue sin antecedente de viaje hacia áreas con circulación viral confirmada en 14 provincias: provincia de Buenos Aires (279), CABA (173), Córdoba (18); Entre Ríos (7), Santa Fe (10), Mendoza (2), Chaco (772); Corrientes (146) Formosa (107), Misiones (154), Jujuy (1), Salta (21), Santiago del Estero (112) y Tucumán (6) (54); y 110 casos confirmados de virus dengue (100 serotipo DENV-1, 3 serotipo DENV-2, 1 serotipo DENV-3 y 6 sin serotipo) y 72 probables (54).

En 2019, hasta la SE 17, se registraron 1084 casos positivos para dengue (confirmados y probables) sin registro de antecedente de viaje. Se definieron áreas de

circulación de virus dengue serotipo DENV-1 en Buenos Aires, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta y Santa Fe. Además, se registraron casos confirmados de virus dengue serotipo DENV-4 en la CABA (2), en Jujuy (1) y en Misiones (7). Este es el primer registro de la circulación de DENV-4 en la provincia de Misiones (51,66).

El 15 de agosto de 2019 la Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS) alertó acerca de un nuevo ciclo epidémico de dengue en la Región de las Américas, luego de dos años de baja incidencia de esta enfermedad, con un incremento de casos de dengue y dengue grave en varios territorios de la Región (66).

2.1.2 Situación en Misiones

En Misiones, se tienen datos de circulación del DENV-1 en el 2001, y DENV-3 en los años 2006 y 2007. A partir de 2009 se observaron brotes estacionales esporádicos de DENV-1. Sin embargo, a fines del año 2015 y comienzos del 2016 se vio un incremento en el número de casos con sospecha de Dengue que ha alcanzado niveles alarmantes en esta provincia, que a Mayo de 2016 se identifica como el epicentro de la epidemia de mayor impacto en Argentina para la presente década. Hasta la semana 28 de 2016 se notificaron 22.975 casos con sospecha de dengue, de los cuales 21.484 corresponden a casos autóctonos y 116 casos importados (54). En los años 2011, 2012 y 2013, co-circularon los virus DENV-1 y DENV-2, mientras que en el año 2014 no se registraron casos de dengue. A fines del 2015 volvieron a detectarse casos de DENV-1, y esta circulación continuó en el 2016 en forma epidémica (52,63,67).

En 2018, en la localidad de Puerto Rico, departamento Lib. Gral. San Martín, se notificaron 102 casos positivos (98 confirmados y 4 probables) con identificación del virus dengue serotipo DENV-1. Se notificaron casos aislados en los departamentos Capital (31 confirmados y 5 probables), Puerto Iguazú (14 confirmados), Montecarlo (1 confirmado) y San Ignacio (1 confirmado) (64). En 2019 se reporta la introducción de DENV-4 por primera vez en la provincia (66).

CAPÍTULO III

3.1 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1 Tipo de estudio y diseño

Se diseñó un estudio descriptivo de corte transversal que permitiera identificar los casos de dengue en la ciudad de Posadas en el período comprendido entre Febrero y Abril de 2016.

Se trata de un estudio descriptivo, puesto que consiste en la “caracterización de un hecho, fenómeno, individuo o grupo, con el fin de establecer su estructura o comportamiento” (68), y recae dentro del diseño transversal, debido a que “se realiza una sola medición de la o las variables en cada individuo” (68).

Este tipo de estudio, también conocido como encuesta de frecuencia o estudio de prevalencia, permite estimar la magnitud y distribución de una enfermedad en una población. En general, se realiza para examinar la presencia o ausencia de una enfermedad, en relación con la presencia o ausencia de una exposición, ambos hechos ocurriendo en un tiempo determinado y en una población específica. Debido a que la medición es simultánea, no permite determinar la causalidad. Estos estudios son especies de fotografías instantáneas del fenómeno objeto de estudio (69).

3.1.2 Población de estudio

Población de afiliados a la obra social IPSM con residencia en el Departamento Capital de la provincia de Misiones, estimada al año 2015 en 100.000 habitantes, equivalente al 30% de la población de dicho Departamento (324.756 habitantes).

Este organismo ofrece cobertura sanitaria a los agentes estatales de la provincia y de los municipios de Misiones. La población de pacientes con cobertura sanitaria del IPSM corresponde a personas pertenecientes a familias con necesidades básicas satisfechas.

3.1.3 Unidad de análisis

Cada paciente que concurrió al laboratorio con sospecha de infección por dengue y que cumpliera con el criterio de inclusión establecido.

3.1.4 Criterio de inclusión

Se incluyeron las muestras de todos los pacientes que concurrieron al IPS presentando síndrome febril inespecífico (SFI), definido como persona de cualquier edad y sexo, que presenta fiebre de menos de siete (7) días de duración, acompañada de dos o más de los siguientes síntomas: anorexia, náuseas, erupciones cutáneas, cefalea, dolor retro ocular, malestar general, mioartralgias, leucopenia, plaquetopenia, petequias, prueba del torniquete positiva, diarrea, vómitos, y que no presenta afección de las vías aéreas superiores ni otra etiología definida.

- a. Para la detección del antígeno NS1 y del genoma viral se incluyeron muestras de pacientes que se encontraban en el período agudo de la enfermedad.
- b. Para la detección de anticuerpos IgM se incluyeron las muestras de pacientes en período agudo, y que resultaron negativas para la detección del antígeno NS1.
- c. Para la detección de anticuerpos IgG, se incluyeron todas las muestras de pacientes que se encontraban en la fase convaleciente de la enfermedad, independientemente de si fueran positivas o negativas para la detección del antígeno NS1 o anticuerpo IgM.

Para la inclusión de los pacientes en este estudio, fue imprescindible contar con el consentimiento informado de éstos (consentimiento de los padres o tutores en el caso de los menores de edad).

3.1.5 Criterio de exclusión

Se excluyeron todas las muestras de pacientes que presentaban síndrome febril inespecífico acompañado de afección de las vías aéreas superiores o etiología definida, o que no dieron su consentimiento informado.

3.1.6 Consideraciones éticas

Los pacientes seleccionados fueron informados sobre la investigación y se les explicó en qué consistiría el estudio. En este trabajo se resguardó la confidencialidad de la información de cada paciente incluido en el estudio (**Anexo 2**).

El proyecto fue evaluado y aprobado por el comité de ética del Hospital Provincial de Pediatría “Dr. Fernando Barreyro” de la Provincia de Misiones, dependencia del Ministerio de Salud de Misiones.

3.1.7 Instrumento de recolección de datos

Para la recolección de datos se utilizaron las planillas clínico epidemiológicas de vigilancia del SFI (Síndrome Febril Inespecífico) del Ministerio de Salud de la Nación, que incluyen los siguientes aspectos: 1. Datos del paciente, 2. Información clínica, 3. Datos epidemiológicos, 4. Sospecha clínica epidemiológica, 5. Datos de laboratorio, y 6. Evolución del caso. **Anexo 1.** Los datos contenidos en ellas fueron cargados en una base de datos en la que se incluyeron, además, los resultados obtenidos en el laboratorio.

3.1.8 Definiciones operacionales teóricas

Caso autóctono: Caso contraído por el enfermo en la zona habitual de su residencia (5).

Caso sospechoso: Persona de cualquier edad y sexo que presenta fiebre, de menos de siete días de duración, acompañada de dos o más de los siguientes síntomas: anorexia, náuseas, erupciones cutáneas, cefalea, dolor retroocular, malestar general, mioartralgias, leucopenia, plaquetopenia, petequias, prueba del torniquete positiva, diarrea, vómitos, y que no presente afección de las vías aéreas superiores ni otra etiología definida (5).

Caso probable: Caso sospechoso con pruebas positivas para la detección de anticuerpos IgM o, pruebas positivas para detección de antígeno NS1 (5).

Caso confirmado:

- En áreas sin circulación viral: Caso sospechoso o probable con aislamiento viral y/o detección del genoma viral en muestras con menos de 5 días de evolución o neutralización positiva en sueros pareados con 10 a 15 días de diferencia.
- En áreas de Argentina con circulación viral: Todo caso compatible con la definición de caso sospechoso será considerado confirmado por nexo epidemiológico. Todo caso con pruebas positivas (IgM, NS1, PCR, Neutralización, Aislamiento viral, inmunohistoquímica en casos graves o fatales) será considerado confirmado por laboratorio (5).

En casos con antecedente de viaje a países y zonas con circulación viral actual de dengue y una prueba de laboratorio positiva se considerará como caso importado.

Caso importado: paciente que se presenta en un área donde no hay evidencia de transmisión o que es área endémica, pero que en el transcurso de 3 a 14 días anteriores estuvo en un área de transmisión comprobada por el laboratorio de referencia (5).

Conducta de riesgo: Forma específica de conducta de la cual se conoce su relación con una susceptibilidad incrementada para una enfermedad específica o para un estado de salud deficiente (70).

Dengue grave: en las que hay manifestaciones hemorrágicas, pérdida de plasma debida al aumento de la permeabilidad vascular, (lo que ocasiona un incremento del hematocrito) y presencia de colecciones líquidas en cavidades serosas (derrame pleural, ascitis y derrame pericárdico), lo que puede llevar a un cuadro de shock (5).

Epidemia: Es el aumento de la incidencia de una enfermedad en poblaciones humanas en un área geográfica determinada (71).

Endemia: Es la presencia constante o la prevalencia habitual de casos de una enfermedad o agente infeccioso en poblaciones humanas dentro de un área geográfica determinada (71).

Índice de Breteau: relación entre el número de recipientes positivos y el número de inmuebles analizados. Se corrige de forma que el resultado sea expresado para 100 inmuebles (72).

Índice de Vivienda: porcentaje de viviendas infestadas con larvas y/o crisálidas del mosquito transmisor del dengue. No considera el número de los recipientes positivos ni el potencial productivo de cada recipiente (72).

Levantamiento de Índices Rápidos de Aedes aegypti (LIRAA): método de monitoreo entomológico que puede realizarse rápidamente a fin de identificar los criaderos más relevantes del mosquito *Aedes aegypti*, lo que permite establecer los riesgos para la comunidad de una epidemia de dengue (72).

Vigilancia epidemiológica: Conjunto de actividades que proporciona información indispensable para conocer, detectar o prever cualquier cambio en la ocurrencia de la enfermedad o en los factores condicionantes del proceso salud-enfermedad, con la finalidad de recomendar, oportunamente, las medidas indicadas que conduzcan a prevenir o controlar las enfermedades (71).

3.1.9 Definición operacional de las variables y categorías

Antecedente de viajes en los últimos 45 días: De utilidad para determinar si se trata de un caso autóctono o no. Categorías: SI (paciente que concurre a áreas geográficas de circulación viral), NO (paciente que no estuvo en áreas de circulación viral, se asocia con caso autóctono).

Antecedentes de vacunación: De utilidad para el análisis de la respuesta inmune en paciente en relación a las pruebas de laboratorio para Dengue. Variable incluida en la encuesta realizada a pacientes. Categorías: SI (está vacunado contra la Fiebre Amarilla y la fecha de la vacunación), NO (paciente que declara no haber recibido la vacuna).

Dirección de residencia del paciente: De utilidad para el estudio de aglomeración de casos. Se especifica municipio, sector de la ciudad, en base a estratificación definida por el Municipio, y domicilio (calle y numeración).

Edad: Expresada en años, esta información se obtiene a partir de los sujetos entrevistados y verificada en los registros de la obra social.

Género: Se registra como femenino y masculino a los participantes del estudio.

Presencia de Fiebre: Definida como sujetos que a la consulta presentan temperaturas corporales superiores a 38°C, de menos de 7 días de evolución, de importancia para caracterizar síndrome febril inespecífico. Categorías: SI, NO.

Fecha de inicio de los síntomas (FIS) de Dengue: Definida como el día de inicio previo al momento de la consulta que el paciente relata haber identificado el padecimiento de fiebre o algún síntoma característico de Dengue.

Síntomas de Dengue: Definidos por el conjunto de síntomas expresados en la Ficha de Investigación de casos de síndrome febril inespecífico del Ministerio de Salud de la Nación (cada síntoma se completa por el profesional interviniente en categorías dicotómicas sobre ausencia o presencia de los especificados).

Hematocrito: Definido como la relación de volumen existente entre los glóbulos rojos y el plasma, expresado de manera porcentual.

Recuento de leucocitos: Definido por la cantidad de glóbulos blancos en sangre, expresado en unidades/mm³.

Recuento de plaquetas: Definido por la cantidad de plaquetas en sangre, expresado en unidades/mm³.

Resultados de NSI: Positivo, Negativo.

Resultado de Anticuerpos IgM e IgG: Positivo, Negativo.

Resultado de PCR: Serotipos 1, 2, 3 ó 4.

3.1.10 Descripción del ámbito de estudio

Este trabajo se llevó a cabo en la ciudad de Posadas de la provincia de Misiones, e incluye exclusivamente a afiliados a la obra social provincial IPS (Instituto de Previsión Social). El Instituto de Previsión Social tiene un total de 242.761 afiliados en toda la provincia, y en Posadas la suma es de 99.838 afiliados.

Posadas es una ciudad argentina, capital de la provincia de Misiones y cabecera del departamento Capital (27°22'00" S; 55°53'49" O). Está ubicada sobre el margen izquierdo del Río Paraná, al sudoeste de la provincia y en el noroeste del departamento Capital. El puente San Roque González de Santa Cruz, tendido sobre el río Paraná, la une con la vecina ciudad de Encarnación (en la República del Paraguay) (56).

Está localizada sobre la ruta nacional 12 y la ruta provincial 213, ubicada a 98 km de la ciudad de Oberá (segunda ciudad de la provincia), a 310 km de Puerto Iguazú, a 380 km de Asunción (capital de Paraguay) y a 1003 km de Buenos Aires (capital de Argentina) (56).

Es la ciudad más poblada de Misiones (324.756 habitantes, según el censo del INDEC de 2010) y su centro administrativo, comercial y cultural (73). Actualmente, es una de las ciudades con más actividad y crecimiento de todo el noreste argentino. Su influencia se extiende hasta la vecina ciudad de Garupá, con la que conforma el Gran Posadas (56).

El municipio de Posadas ocupa la parte urbana de la ciudad, más una zona rural ubicada al sur y oeste de la misma, llegando hasta el límite con la provincia de Corrientes.

Numerosos arroyos nacen dentro de la zona urbana y desembocan en el Paraná. Entre los más importantes, encontramos al Patotí y el Vicario, que reciben a su vez el aporte de otros pequeños afluentes. Aunque solían causar serios daños con las crecientes, el entubamiento de la mayor parte de su recorrido logró que prácticamente no afecten la ciudad (56,57).

Por su parte, los dos arroyos más importantes que atraviesan la ciudad nacen en el interior de la provincia y desaguan también en el río Paraná: el arroyo Mártires y el arroyo Zaimán. Son de escasos caudales, salvo en sus desembocaduras donde forman pequeñas rías que se vieron aumentadas al completarse el llenado del embalse de Yacyretá, formando grandes espejos de agua. El arroyo Zaimán forma parte del límite con el municipio de Garupá (cuando faltan algunos kilómetros para su desembocadura), mientras que el Mártires forma un virtual límite oeste con la zona rural y aeroportuaria en sus últimos 5 km (57).

El clima es subtropical húmedo. Las lluvias anuales rondan los 2000 mm, lo que sumado a una elevada humedad ambiental (humedad relativa promedio anual: 74%) y la cercanía del río conformaban —previo a la urbanización— una vegetación selvática muy densa (55).

Las temperaturas son templadas en Junio, Julio y Agosto, con una temperatura promedio de 16.8°C. Mientras que el verano es muy caluroso, en los meses de Diciembre, Enero y Febrero hay una temperatura promedio de 26.8°C, con días en que la temperatura supera los 38.5°C. Los calores suelen ser mucho más difíciles de soportar producto de la alta humedad ambiental (55).

3.1.11 Georeferenciación

Para el estudio de aglomeración de casos se utilizó la aplicación *My maps* de Google. El mapa se construyó a partir de información contenida en las planillas clínico-epidemiológica, o en su defecto, a partir de los registros de la obra social, donde se especifica: municipio, sector de la ciudad, y domicilio (calle y numeración).

3.1.12 Análisis estadístico

Se utilizó el programa Statgraphics® Centurion XVI (StatPoint Technologies, 2009). Los datos de las planillas y de los resultados de laboratorio se cargaron en una base diseñada en dicho programa. Se calcularon estadígrafos, como la media y el desvío estándar, y se analizaron asociaciones mediante cálculo de Odds ratio y su significación estadística ($p < 0.05$).

La comparación de variables categóricas (sexo, grupos etarios) se realizó mediante la prueba de chi-cuadrado (χ^2). Para la comparación de las variables cuantitativas con distribución normal se utilizó la distribución t de Student. Como prueba de normalidad se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov. Se analizó mediante regresión logística la asociación estadística entre los signos y síntomas clínicos y el diagnóstico de laboratorio.

3.2 MUESTRAS CLÍNICAS

Para los análisis de laboratorio se utilizaron muestras de sangre entera en período agudo, para la determinación del hemograma; y muestras de suero para el estudio serológico y detección del genoma del virus Dengue, obtenidas en período agudo y convaleciente, de pacientes febriles y con síntomas de la enfermedad que concurrieron al Instituto de Previsión Social de la Provincia de Misiones, Argentina, y sus dependencias, en el período comprendido entre febrero y abril de 2016.

Las muestras fueron tomadas por profesionales bioquímicos del IPSM, utilizando dos tubos de recolección diferentes: uno con EDTA, para la determinación del hemograma; y otro sin aditivos, para la obtención del suero luego de la centrifugación.

Las muestras de suero fueron enviadas refrigeradas al Laboratorio de Microbiología Especializada que funciona en el Módulo de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, acompañadas de la ficha epidemiológica correspondiente. Además, en el momento de la toma de muestra se obtuvo el consentimiento informado del paciente.

Para la detección de antígeno NS1 y anticuerpos IgM e IgG, se utilizaron muestras pareadas de suero con al menos 15 días de diferencia entre ambas tomas de muestra. La detección de NS1 se realizó mediante la técnica de ELISA en muestras de suero que no superaran los 10 días de evolución a partir de la FIS. Mientras que la detección de anticuerpos IgM se realizó por la misma técnica en las muestras que resultaron negativas para esta última. A las muestras de pacientes en período convaleciente (entre 15 y 20 días de evolución) se les realizó la técnica de ELISA para detección de anticuerpos IgG.

Para la detección del genoma viral e investigación del serotipo se utilizaron muestras únicas en período agudo (no más de 5 días desde el inicio de los síntomas), y se las sometieron a PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).

3.3 METODOLOGÍA DE LABORATORIO

3.3.1 Determinación de hemograma y recuento de plaquetas

Se realizó en el laboratorio del IPSM utilizando el contador hematológico CELL-DYNN Ruby de Abbott Laboratories, a partir de muestras de sangre entera tomada en período agudo.

3.3.2 Detección de antígeno NS1

Se realizó mediante la técnica de ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*), utilizando el kit comercial *DENV Detect™ NS1 ELISA*, siguiendo las instrucciones del fabricante (InBios International Inc. USA).

3.3.3 Detección de anticuerpos IgM e IgG

Se llevó a cabo la detección mediante la técnica de ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*), utilizando los kits comerciales *DENV Detect™ IgM Capture ELISA Kit* y *DENV Detect™ IgG ELISA Kit*, respectivamente, siguiendo las instrucciones del fabricante (InBios International Inc. USA).

3.3.4 Procesamiento de las muestras para la realización de técnicas de amplificación de ARN

La extracción de ARN se realizó en forma manual por métodos comerciales. Se utilizó el kit comercial QIAmp Viral RNA mini kit (QIAGEN Cat 52904-52906). La lisis del material biológico se realizó en cabina de seguridad de tipo II, utilizando el Procedimiento de Operación Normalizado sugerido por el centro de referencia nacional “Instituto Julio Maiztegui” de Pergamino.

3.3.5 Nested RT-PCR para la serotipificación del virus Dengue

La detección del material genómico (ARN) se realizó mediante la técnica de RT-PCR, es decir, el ARN aislado fue retrotranscrito en ADN mediante la acción de una transcriptasa reversa, y éste sometido a varios ciclos de amplificación utilizando *primers* específicos. Posteriormente, el ADN amplificado en la primera PCR fue sometido a una segunda reacción de amplificación utilizando *primers* internos (*nested* PCR), siguiendo el protocolo de Lanciotti *et al* (27).

A partir del ARN extraído (3 μ l), se amplificó un fragmento de aproximadamente 511 pb de los genes C-prM del virus Dengue, usando los *primers* D1 y D2 (**Tabla 1**).

La mezcla madre para la realización de la reacción consistió en 3,3 μ l de buffer de reacción 10X, con una concentración final 1X; 25 mM de MgCl₂; 25 mM de cada uno de los cuatro dNTPs; 0,1 M de DTT (Ditiotreitol); 40 U/ μ l de ARNsin; 100 μ M de cada *primer*; 5 U/ μ l de Taq polimerasa y 3 U/ μ l de la enzima transcriptasa reversa (RT). En cada tubo de reacción conteniendo 27 μ l de la mezcla madre se agregó 3 μ l del ARN extraído previamente, obteniéndose un volumen final de 30 μ l.

Como control negativo de la PCR se utilizó la misma mezcla de reacción sometida a las mismas condiciones pero sin ARN blanco (siendo reemplazado por agua ultrapura), y como control positivo 3 µl de ARN de DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4 (incluidos en un solo vial), provisto por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC Lot #15-0058).

El proceso de amplificación se llevó a cabo en un Termociclador Compacto Labnet, modelo MultiGene™II Personal ThermalCycler, y el ciclado se inició con una transcripción inversa inicial a 42°C durante 65 min y desnaturalización a 94°C por 2 minutos, seguidos de un total de 35 ciclos de amplificación. Cada ciclo consistió en una desnaturalización a 94°C por 1 min, una etapa de hibridación a 55°C por 2 min, y una etapa final de elongación de la cadena a 72°C por 3 min. La extensión final se realizó a 72°C durante 10 min.

En el segundo *round* de la nested PCR se utilizaron los *primers* D1, TS1, TS2, TS3 y TS4, descritos en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Primers utilizados en la nested RT-PCR para la serotipificación del virus Dengue.

<i>Primer</i>	<i>Secuencia</i>	Tamaño del fragmento
D1	5' TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG 3'	
D2	5' TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC 3'	511 pb
TS1	5' CGTCTCAGTGATCCGGGGG 3'	482 pb
TS2	5' CGCCACAAGGGCCATGAACAG 3'	119 pb
TS3	5' TAACATCATCATGAGACAGAGC 3'	290 pb
TS4	5' CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA 3'	392 pb

La mezcla madre para la realización de la reacción consistió en 3,3 µl de buffer de reacción 10X con una concentración final 1X; 25 Mm de MgCl₂; 25 mM de cada uno de los cuatro dNTPs; 100 µM de cada *primer*; y 5 U/µl de Taq polimerasa. En cada tubo de reacción conteniendo 27 µl de la mezcla madre se agregó 3 µl del producto de la primera reacción de

PCR diluido 1/50 (98 μ l de agua despirogenada + 2 μ l del producto de la primera amplificación), obteniéndose un volumen final de 30 μ l.

El proceso de ciclado consistió en 18 ciclos de amplificación con desnaturalización a 94°C por 30 s, hibridación a 55°C por 1 min, y extensión a 72°C por 2 min. La extensión final se realizó a 72°C durante 10 min.

Luego de terminado el proceso de amplificación los tubos son conservados a 4°C hasta la realización de la corrida electroforética o a -20°C para su almacenamiento.

El análisis de los productos obtenidos en la PCR se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5% en buffer TBE 0,5X, aplicando una corriente eléctrica de 80 voltios durante 1 hora. La aparición de bandas del tamaño del fragmento amplificado se observó al exponerlo a luz ultravioleta en el transiluminador. Para determinar el tamaño del producto de amplificación, se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb.

CAPÍTULO IV

4.1 RESULTADOS

Entre Febrero y Abril del 2016 se analizaron 201 muestras de suero de pacientes con sintomatología de dengue que concurrieron al laboratorio del IPSM. De éstas, 108 correspondieron a muestras pareadas, tomadas en período agudo y convaleciente de la enfermedad, con una media de 16 días ($ds=3,02$) entre ambas; y 93 fueron muestras únicas tomadas en período agudo de la enfermedad (**Figura 10**).

El rango de edad de estos pacientes estuvo comprendido entre los 6 y 92 años, con una media de 44,43 años ($ds=19,9$), y el 37,3% (75/201) de los pacientes eran hombres. En todos los casos se trataron de pacientes ambulatorios, sin signos de alarma. No se registraron casos de dengue grave.

El análisis de los datos correspondientes a los signos y síntomas clínicos de los pacientes se realizó únicamente en las muestras pareadas, ya que en la demás no se contaba con la ficha epidemiológica correspondiente.

4.1.1 Análisis de muestras pareadas

En el análisis de las muestras pareadas, las muestras correspondientes al período agudo se utilizaron para la detección del antígeno NS1 mediante ELISA, de las cuales el 59,3% fueron positivas (64/108). A las muestras negativas (44/108), se les realizó la técnica de ELISA para la detección del anticuerpo IgM, encontrando al mismo en 16 de ellas (36,4%).

La segunda muestra, tomada en el período de convalecencia, fue utilizada para investigar la presencia de anticuerpos IgG, detectándose en el 42,6% (46/108) de las muestras analizadas. De este modo, se observó, que del total de muestras pareadas, el 74,1% (80/108) fueron positivas ya sea para la detección del antígeno, o de los anticuerpos IgM o IgG (**Figura 11**).

El rango de edad de estos pacientes estuvo comprendido entre los 6 y 84 años, con una media de 42,13 años ($ds=18,3$). El 33,3% (36/108) de los pacientes eran hombres y el 66,7% (72/108) eran mujeres.

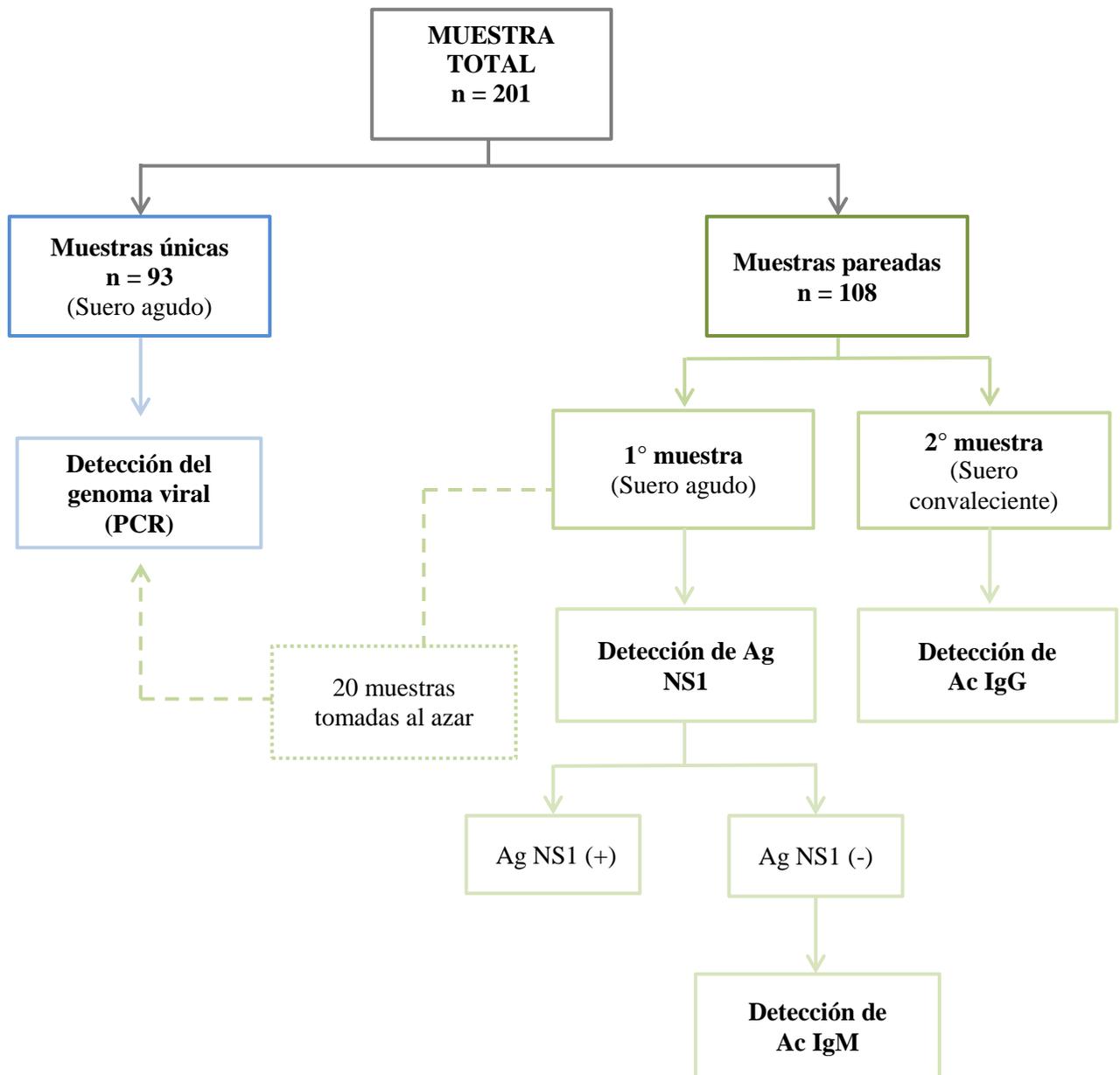


Figura 11. Algoritmo general empleado en la detección de pacientes infectados con el virus Dengue. Posadas, Misiones, 2016.

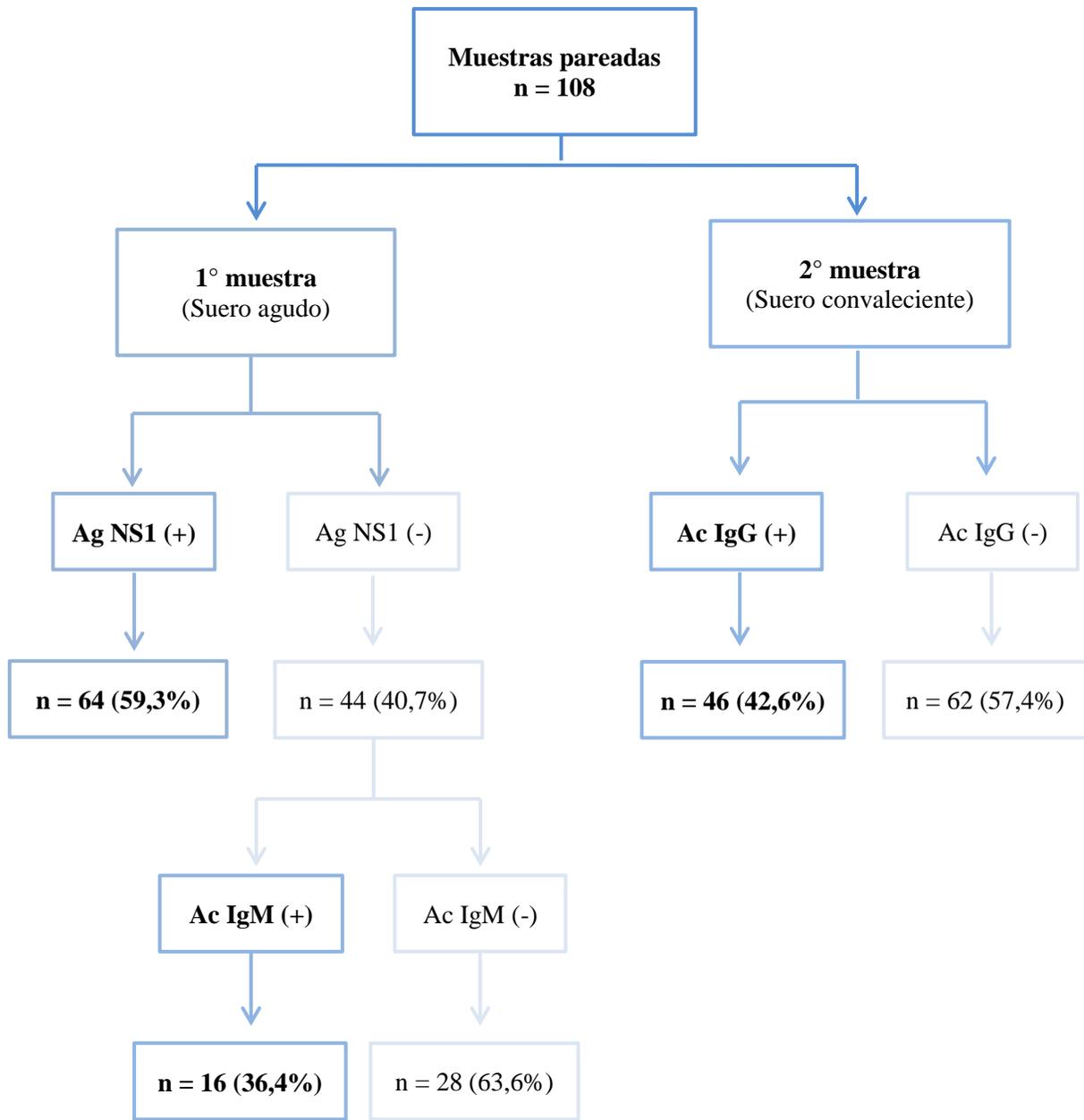


Figura 12. Algoritmo laboratorial empleado en las muestras pareadas para la detección de pacientes infectados con virus Dengue. Posadas, Misiones, 2016.

Al realizar el análisis estadístico, no se encontró asociación entre los rangos de edad de los pacientes y la infección por dengue ($p = 0,71$) (**Tabla 2**). El mayor porcentaje de positivos se encontró en el grupo de 46 a 65 años (Tabla 2). La edad media de los pacientes infectados fue de 43,14 años ($ds = 18,55$), y en los no infectados fue de 39,25 ($ds=17,6$) ($p=0,34$).

Tabla 2. Frecuencia de casos positivos y negativos de Dengue por grupos de edad. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

Edad	Dengue			Estadísticos		% del total de positivos (n = 80)
	Positivo (n = 80) n (%)	Negativo (n = 28) n (%)	Total (n = 108) n (%)	OR (IC95%)	p	
6 - 25	18 (69,2)	8 (30,8)	26 (24,1)	1	-	22,5
26 - 45	24 (75)	8 (25)	32 (29,6)	1,33 (0,42-4,35)	0,52	30
46 - 65	30 (73,2)	11 (26,8)	41 (38)	1,20 (0,49-4,55)	0,46	37,5
> 65	8 (88,9)	1 (11,1)	9 (8,3)	3,57 (0,38-33,4)	0,28	10

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

Al analizar la variable sexo, se observó una mayor proporción de hombres con dengue (86,1%), frente a mujeres que presentaron la infección (68,1%) ($p = 0,04$) (**Tabla 3**).

Tabla 3. Frecuencia de casos positivos y negativos de Dengue en función al sexo. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

Sexo	Dengue			Estadísticos		
	Positivo (n = 80) n (%)	Negativo (n = 28) n (%)	Total n (%)	OR	IC 95%	p
Hombres	31 (86,1)	5 (13,9)	36 (33,3)	2,91	1,00 – 8,46	0,04
Mujeres	49 (68,1)	23 (31,9)	72 (66,7)			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

De los 80 pacientes positivos, únicamente se cuenta con la información de antecedente de viaje en el 62,5% (50/80). De estos últimos, solamente el 22% (11/50) reportó haber viajado en los 45 días previos al comienzo de los síntomas. De los 11 pacientes con antecedente de viaje, 3 viajaron a Brasil, y los demás lo hicieron al interior de la provincia de Misiones: San Pedro (2), Puerto Rico (1), Jardín América (1), Bernardo de Irigoyen (1), y Eldorado (1).

Al analizar el antecedente de vacunación contra la Fiebre Amarilla, se observó que 26 (24,1%) pacientes estaban vacunados, 21 (19,4%) no vacunados y 61 (56,5%) no manifestaron su condición.

En el análisis de los datos correspondientes a los signos y síntomas clínicos no se halló asociación entre las variables analizadas y la infección por Dengue. Las manifestaciones clínicas más comunes entre los casos positivos de Dengue fueron: fiebre (98,8%), mialgia (93,8%), cefalea (88,8%) y artralgia (80%). Solo el 33,8% presentó exantema cutáneo (**Tabla 4**).

Tabla 4. Manifestaciones clínicas en pacientes con sospecha de Dengue. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

	Dengue Positivo (n = 80) n (%)	Dengue Negativo (n = 28) n (%)	OR	(IC 95%)	p
Fiebre	79 (98,8)	27 (96,4)	0,36	(0,02 – 7,66)	0,51
Mialgia	75 (93,8)	25 (89,3)	0,53	(0,09 – 2,80)	0,45
Cefalea	71 (88,8)	25 (89,3)	1,02	(0,18 – 5,65)	0,99
Artralgia	64 (80)	23 (82,1)	1,21	(0,36 – 4,00)	0,75
Dolor Retroocular	52 (65)	20 (71,4)	1,41	(0,47 – 4,26)	0,53
Dolor Abdominal	34 (42,5)	13 (46,4)	1,23	(0,46 – 3,33)	0,68
Exantema	27 (33,8)	7 (25)	0,68	(0,24 – 1,89)	0,44
Vómito	17 (21,3)	5 (17,9)	0,73	(0,21 – 2,52)	0,61

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

No obstante, al comparar los resultados de laboratorio, determinaciones que fueron llevadas a cabo en la muestra de sangre entera obtenida en período agudo de la enfermedad ($x=2,97$ días, $ds=1,57$), se observaron diferencias estadísticamente significativas en el recuento de glóbulos blancos y hematocrito entre los pacientes con dengue y aquellos que no presentaban la enfermedad ($p < 0,05$) (**Tabla 5**).

Tabla 5. Hematocrito y recuento de glóbulos blancos y plaquetas en pacientes positivos y negativos para Dengue. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

	Dengue Positivo (IC95%)	Dengue Negativo (IC95%)	<i>p</i>
Hematocrito (%)	42,4 (41,5 - 43,4)	40,2 (38,8 - 41,5)	0,011
Glóbulos blancos/ mm ³	5008 (4543 - 5473)	6111 (5311 - 6912)	0,018
Plaquetas x 10 ³ / mm ³	193 (174 - 212)	218 (191 - 245)	0,167

IC: intervalo de confianza

Para calcular la magnitud de la asociación entre los casos de dengue positivo y valores del hemograma, mediante el análisis de regresión logística se consideraron los siguientes valores de corte: hematocrito $> 45\%$, glóbulos blancos $< 4.000/\text{mm}^3$ y Plaquetas $< 140.000/\text{mm}^3$, teniendo en cuenta los parámetros bioquímicos de referencia.

De los pacientes con dengue, el 51,1% tenía un valor de hematocrito $> 45\%$ frente a solo el 7,1% de los pacientes dengue negativos ($p=0,013$), y el 36,3% tenía un recuento de glóbulos blancos < 4.000 frente a sólo el 10,7% de los pacientes negativos para dengue ($p=0,010$) (**Tabla 6**).

Tabla 6. Hematocrito y recuento de glóbulos blancos y plaquetas en pacientes positivos y negativos para Dengue. IPSM, Posadas, Misiones, 2016.

	Dengue Positivo (n = 80)	Dengue Negativo (n = 28)	OR	(IC 95%)	<i>p</i>
Hematocrito > 45 (%)	41 (51,3)	2 (7,1)	0,18	(0,03 – 0,89)	0,013
Glóbulos blancos $< 4.000/\text{mm}^3$	29 (36,3)	3 (10,7)	4,82	(1,24 – 18,75)	0,010
Plaquetas $< 140.000/\text{mm}^3$	25 (31,3)	5 (17,9)	1,51	(0,46 – 5,02)	0,486

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

4.1.2 Análisis de muestras únicas (no pareadas)

Para la detección del genoma viral e identificación del serotipo se estudiaron inicialmente 93 muestras con sospecha de Dengue en período agudo (muestras únicas), obtenidas entre el 12 y 19 de Febrero de 2016. La edad de estos pacientes estuvo comprendida entre los 8 y 92 años, con una media de 47,3 años (ds = 21,97). Del total de 93 pacientes, 37 eran hombres (40,2%) y 55 mujeres (59,8%).

Mediante la técnica de RT-PCR se detectó genoma del virus Dengue en el 62,3% (58/93) de los sueros, correspondiendo en todos los casos a DENV-1 (**Figura 12**).

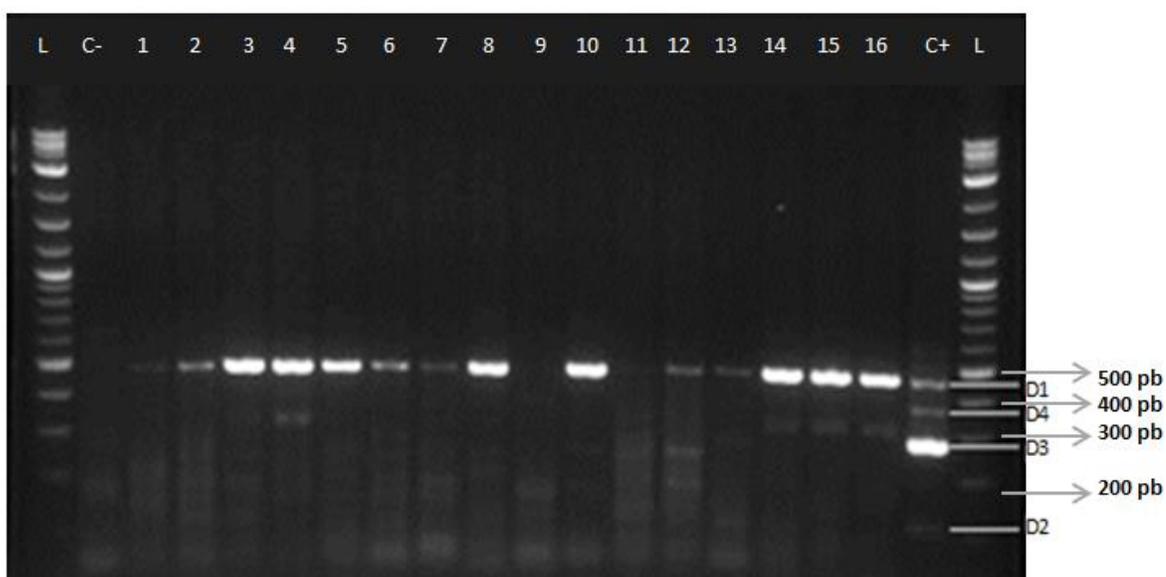


Figura 13. Electroforesis en gel de agarosa (Muestras únicas). Fragmentos generados mediante la amplificación por RT-PCR de una porción de los genes C-prM del virus Dengue. Calle (C-): Control negativo; Calles 1 a 16: muestras; Calle (C+): control positivo; Calles L: marcador de peso molecular de 100 pb. D1: DENV-1; D2: DENV-2; D3: DENV-3 y D4: DENV-4.

Posteriormente, 20 muestras positivas para la detección del antígeno NS1 correspondientes al grupo de 108 muestras pareadas fueron seleccionadas al azar para la serotipificación del virus dengue y evaluar la introducción de otro serotipo. Todas correspondieron a DENV-1 (**Figura 13**).

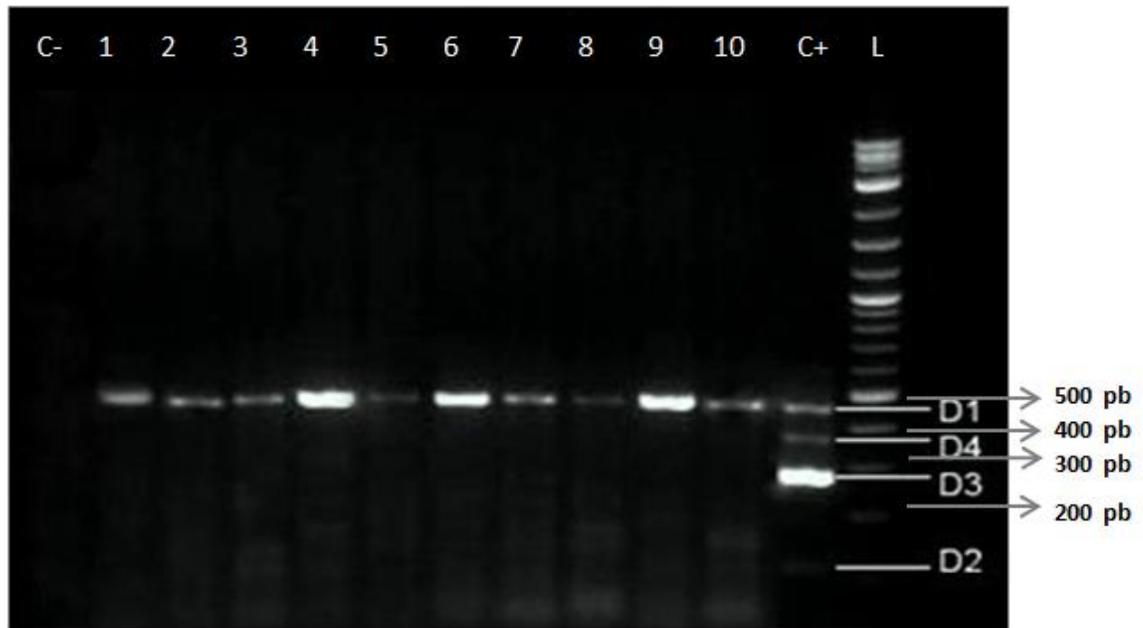


Figura 14. Electroforesis en gel de agarosa (muestras pareadas). Fragmentos generados mediante la amplificación por RT-PCR de una porción de los genes C-prM del virus Dengue. Calle (C-): Control negativo; Calles 1 a 10: muestras; Calle (C+): control positivo; Calle L: marcador de peso molecular de 100 pb. D1: DENV-1; D2: DENV-2; D3: DENV-3 y D4: DENV-4.

4.1.3 Georeferenciación de casos positivos

Se georeferenciaron 98 de 138 casos positivos de Dengue (71%), entre muestras únicas y pareadas, en los que se contaba con la dirección de residencia (**Figura 14**).

El mapa fue dividido en 11 estratos en concordancia con la delimitación realizada por la municipalidad de Posadas para el levantamiento de índices rápidos de *A. aegypti* (LIRAA), en función de la densidad poblacional y del número de inmuebles existentes. Cada estrato comprende entre 8.100 y 12.000 viviendas.

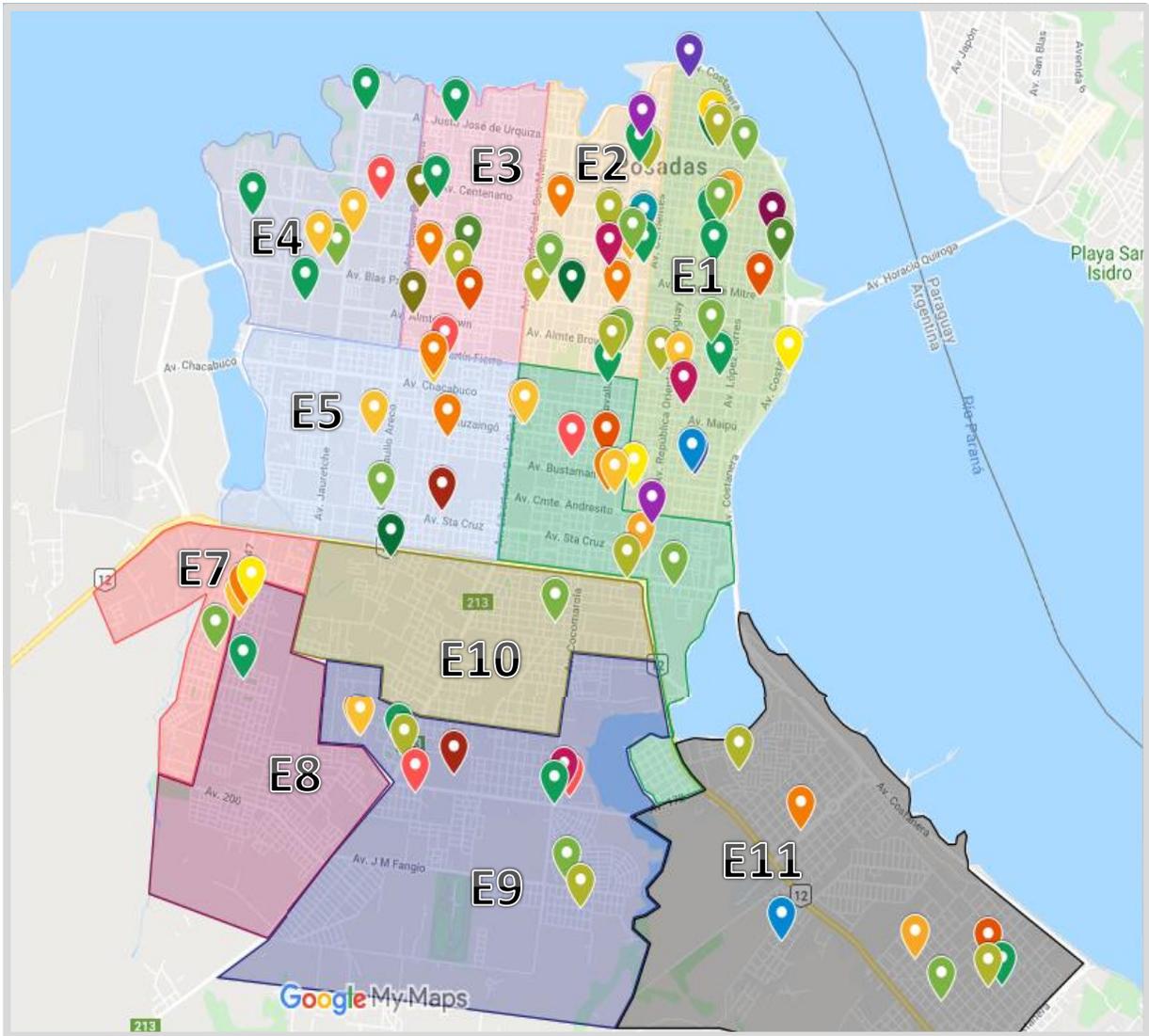
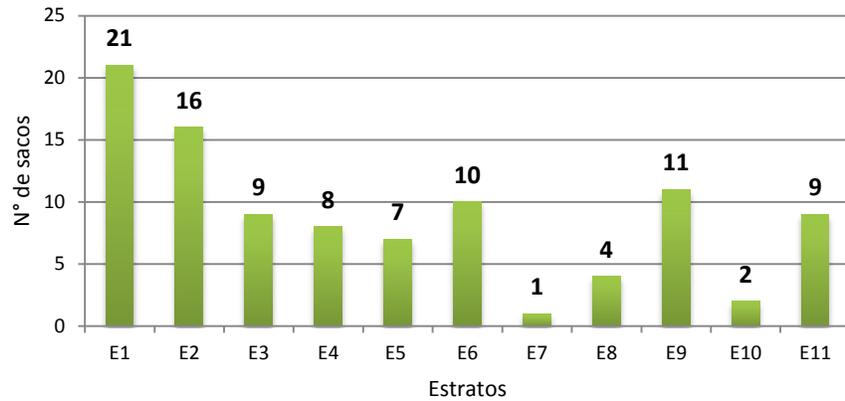


Figura 15. Georeferenciación de los casos positivos de Dengue. Posadas, Misiones, 2016.

Se observó una mayor frecuencia de casos de dengue en el estrato E1, con 21 casos (21,4%), seguido por el estrato E2 con 16 casos (16,4%) (**Gráfico 2**).

Gráfico 2. Distribución por estrato de los casos positivos de dengue. Posadas, Misiones, 2016.



Todos los estratos (n = 11) de la ciudad de Posadas registraron en los períodos estudiados índices entomológicos considerados de alto riesgo de transmisión de Dengue (IB>5) (**Tabla 7**). Los estratos con mayor frecuencia de casos confirmados de dengue (E1 y E2) no se correspondieron con aquellos estratos de mayores índices de vivienda (E3 y E7).

Tabla 7. Índices entomológicos de *Aedes aegypti* en los diferentes estratos de la ciudad de Posadas. Año 2016 (Sala de Situación en Salud de la Municipalidad de Posadas).

Estratos	sep-15		abr-16	
	IV	IB	IV	IB
E1	8,33	10,04	11,9	16,9
E2	12,20	15,93	19,7	28,6
E3	14,22	18,48	20,7	23,1
E4	9,38	12,50	13,2	17,5
E5	10,21	14,00	15,6	21,1
E6	11,31	13,06	14,1	20,0
E7	13,73	16,99	26,7	37,0
E8	7,51	11,14	13,4	15,6
E9	10,50	11,69	18,8	24,1
E10	6,42	7,78	13,6	17,9
E11	8,50	10,07	13,7	18,7
TOTAL	10,15	12,76	15,9	21,3

IV: Índice de vivienda
IB: Índice de Breteau

Se realizó un análisis de correlación entre el número de casos positivos de Dengue y el índice de viviendas (IV) en cada estrato de la ciudad de Posadas, sin observarse una correlación entre estas dos variables ($r^2=0,03$; $p=0,62$).

5. DISCUSIÓN

En este trabajo se ha observado que el 74,1% de los pacientes que concurrieron al laboratorio del IPSM con sospecha de dengue durante el período del brote, presentaron la infección. Estos resultados conciden con los elevados índices entomológicos obtenidos en la capital misionera mediante el Levantamiento de Índices Rápidos de *Aedes aegypti* (LIRAA) en el mismo período.

En Argentina, durante el período que comprendió este estudio, fueron notificados al SNVS 60.925 casos con sospecha de Dengue, de los cuales, 15.516 correspondían a casos autóctonos, y 2.489 casos importados de áreas con circulación viral. En Misiones, hasta ese momento se habían registrados aproximadamente 18.876 casos con sospecha de Dengue, constituyendo aproximadamente el 30% de los casos a nivel país (62,74).

El elevado número de casos ocurridos en Misiones en relación a otras provincias, podría deberse, entre otros factores, a las condiciones ambientales que la caracterizan - clima tropical húmedo sin estación seca, con altos registros pluviométricos y elevadas temperaturas - que favorecen el desarrollo del vector y la dinámica poblacional del mismo; las características socio-económicas y conductuales de la población; el rápido crecimiento poblacional, urbanización no planificada, inadecuado suministro de agua, y las dificultades en la recolección de residuos en algunas regiones de la provincia, que se asocian al consecuente incremento del mosquito vector, dificultando su erradicación, principalmente en las poblaciones económicamente más desfavorecidas; y la ubicación geográfica, asociada a la intensa circulación del virus en países limítrofes (Brasil y Paraguay), lo que hace a Misiones, y en particular a Posadas, una ciudad vulnerable a la introducción del virus (5,75).

Si bien en este estudio no se halló asociación entre la edad de los pacientes y la infección con el virus, se pudo determinar una mayor frecuencia de personas infectadas en

el grupo de pacientes de entre 46 y 65 años en función del total de casos positivos, siendo la edad media de los pacientes infectados de 43,14 años (ds 18,55). Estos datos difieren de los obtenidos por Carrión *et al.* en un trabajo realizado en Cuba, donde obtuvieron una mayor prevalencia en el grupo etario de 25 a 34 años, seguido del grupo de 35 a 44 años (75). Asimismo, un estudio realizado por Tittarelli *et al.*, durante el brote ocurrido en la provincia de Buenos Aires en 2009, arrojó como resultado una media de 36 años del total de casos confirmados, inferior a la hallada en este estudio (76). En nuestro trabajo se observa, además, una mayor proporción intragrupo de casos positivos en los pacientes de más de 65 años, donde 8 de los 9 pacientes estudiados presentaron la infección.

En este trabajo se encontró una proporción discretamente superior en hombres con dengue, frente a mujeres que presentaron la infección ($p = 0,04$). Posiblemente, esto se deba al hecho de que los hombres son más renuentes a acudir a consultas médicas, haciéndolo solamente cuando los síntomas se manifiestan en forma severa. Estos resultados concuerdan con lo reportado en el análisis de brote por Tittarelli *et al.*, donde hallaron una mayor proporción de hombres infectados (76), y discrepan con otros trabajos, donde sugieren que son las mujeres quienes poseen mayor riesgo de contraer la enfermedad, debido a que sus actividades domésticas implican mayores períodos de contacto con el vector, que presenta hábitos diurnos y hábitat peridomiciliario (75,77).

Del total de casos positivos detectados (80/108), solamente se contó con la información de antecedente de viaje en el 62,5%. De estos últimos, el 78% de los pacientes manifestó no haber salido recientemente de la ciudad de Posadas, por lo que se tratarían de casos autóctonos. Únicamente 3 reportaron antecedente de viaje al exterior del país en los 45 días previos a la infección. Todos ellos refirieron a Brasil como destino de viaje. Sin embargo, consideramos que en estos casos el antecedente de viaje, sin un análisis más exhaustivo, no sería suficiente para concluir que se trataran de casos importados. Resultados similares fueron obtenidos en el trabajo realizado por Tittarelli *et al.* en 2016 en Buenos Aires, donde el 76,7% de los pacientes reportó no tener antecedente de viaje fuera del área metropolitana dentro los 15 días previos al comienzo de la fiebre (78). En coincidencia también a los obtenidos por Cazes *et al.* en un estudio llevado a cabo en pacientes pediátricos de la Ciudad de Buenos Aires, donde el 83% (130/156) de los casos

correspondían a casos autóctonos (59). En Misiones, de los 22.975 casos notificados en 2016 con sospecha de dengue, solamente 116 correspondieron a casos importados, lo que pone de manifiesto la intensa circulación del virus en la provincia (53).

El dengue posee un amplio espectro de presentaciones clínicas y a menudo evoluciona con resultados impredecibles. La inespecificidad de los síntomas prodrómicos, dificultan el diagnóstico clínico temprano, ya que no permite distinguir esta arbovirosis de otras causas de síndrome febril agudo como influenza, enfermedad diarreica, rubéola, fiebre tifoidea y leptospirosis, entre otras, o las arbovirosis de reciente emergencia como la enfermedad por virus Zika y Chikungunya, cuya presentación clínica es muy similar a la generada por el Dengue (58,79).

Al realizar el análisis entre la sintomatología y la infección por dengue, no se halló asociación con ninguna de las variables analizadas. Las manifestaciones clínicas más comunes entre los casos positivos de Dengue fueron: fiebre, mialgia, cefalea y artralgia. En este punto, los resultados obtenidos coinciden con los publicados en un trabajo realizado en pacientes pediátricos del Hospital Gutiérrez de la Ciudad de Buenos Aires, donde se hallaron como manifestaciones más frecuentes la fiebre, cefalea y mialgia (59), y parcialmente con los reportados por Díaz *et al.* en un estudio realizado en Colombia (58), donde los autores hallaron que las artralgias y la ausencia de diarrea mostraron una tendencia a asociarse con el dengue. Sin embargo, en este último reportan al exantema como indicador de esta arbovirosis, independientemente de la presencia de otras manifestaciones, avalando resultados obtenidos en Brasil, Barbados y el Sudeste de Asia, donde se encontró que el exantema fue útil para diferenciar el dengue de otras causas de síndrome febril agudo (80–82). A diferencia de estos estudios, en nuestro trabajo solamente el 33,8% de los pacientes positivos refirió haber presentado exantema ($p=0,44$).

En relación a los análisis de laboratorio, los resultados obtenidos concuerdan con la literatura donde se refiere que la etapa febril de la enfermedad puede ir acompañada de leucopenia y aumento del hematocrito. En este trabajo se evidenció asociación entre el valor del hematocrito $>45\%$ y recuento de glóbulos blancos $< 4.000/\text{mm}^3$ ($p=0,013$ y $p=0,010$, respectivamente), y la infección por el virus Dengue; y se observa que los pacientes que presentan un recuento de glóbulos blancos < 4.000 tienen aproximadamente 5

veces más probabilidad de estar infectados (OR = 4,7; IC95%: 1,208 – 18,282). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Díaz *et al.*, donde hallaron asociación entre el recuento de glóbulos blancos y pacientes con dengue, y difieren con nuestro trabajo en que hallaron además asociación con el recuento de plaquetas; cabe aclarar que utilizaron un punto de corte superior ($< 180.000/\text{mm}^3$) (58).

En cuanto a la serotipificación del virus dengue, en este estudio solamente se detectó la circulación del DENV-1. Esto coincide con lo reportado en el Boletín Integrado de Vigilancia del Ministerio de Salud de la Nación, según el cual, durante el brote circularon en el país los serotipos DENV-1 y DENV-4, pero en magnitud y extensión muy diferentes; el DENV-4 tuvo una circulación de baja intensidad, habiéndose identificado únicamente en Buenos Aires, Salta y Santa Fe (53). Asimismo, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Tittarelli *et al.* en los trabajos realizados en la provincia de Buenos Aires durante el brote ocurrido entre fines de 2015 y principios de 2016, donde hallaron únicamente la circulación de DENV-1 (76,78).

En el año 2019 se detectó la introducción de DENV-4 en la provincia de Misiones. Es la primera vez que se identifica este serotipo en la provincia. Este hecho pone de manifiesto la necesidad de mantener la vigilancia epidemiológica, ya que la infección por un serotipo no proporciona protección contra los demás, y puede condicionar el inicio de la enfermedad en su forma más grave (5).

En cuanto a la georeferenciación, no se observó correlación entre el índice de vivienda y el número de casos de dengue en los diferentes estratos de la ciudad de Posadas ($r^2=0,03$; $p=0,62$). Se observó mayor frecuencia de casos confirmados en el estrato E1, que paradójicamente coincide con lotes, inmuebles y propiedades que corresponden, en promedio, a familias de mayor poder adquisitivo respecto a los demás estratos.

Los elevados índices entomológicos observados en todos los estratos de Posadas ($\text{IB}>5$), sumados a la evidencia de circulación viral, sugieren un alto riesgo de transmisión del dengue en todos ellos. No obstante, en este estudio, los índices entomológicos parecieran no contribuir a predecir el mayor riesgo de ocurrencia de casos de la enfermedad por estratos.

La visualización de los casos de dengue en un mapa constituye una herramienta importante para el desarrollo de acciones promocionales-preventivas dentro de una estrategia de atención primaria de la salud.

Dado que a la fecha no existe un mecanismo de prevención específico en el territorio, el único elemento controlable de la cadena de transmisión del dengue es su vector, por lo que las acciones deben estar orientadas a cambios de conductas y comportamientos ecológicos socialmente aceptados que garanticen el control del vector, y consecuentemente la circulación del virus. Además, es fundamental el abordaje de aspectos epidemiológicos vinculados a las condiciones de vida de la población (características de las viviendas, hacinamiento, provisión de agua segura, entre otras variables) para poder situar el avance de estas enfermedades emergentes en sus contextos socio-ambientales para realizar intervenciones beneficiosas para la salud de la población.

6. CONCLUSIONES

Este estudio permitió describir las características clínico-epidemiológicas de los pacientes de la obra social IPSM afectados por el virus Dengue en la ciudad de Posadas, que concurren al laboratorio entre Febrero y Abril del 2016.

Se estudiaron 108 muestras pareadas para el diagnóstico de la enfermedad y se identificaron 80 (74,1%) pacientes con dengue, mediante detección del antígeno NS1, o de anticuerpos IgM o IgG. El 78% de los pacientes infectados manifestaron no haber viajado en el mes previo al estudio y se definieron como casos autóctonos.

La edad media de los pacientes infectados fue de 43,14 años (ds = 18,55), con una mayor frecuencia en el grupo de 46 a 65 años; y se observó mayor proporción de hombres con dengue (86,1%) respecto a las mujeres (68,1%).

Se identificaron como factores predictivos de dengue el hematocrito $> 45\%$ ($p = 0,013$) y el recuento de glóbulos blancos $< 4.000/\text{mm}^3$ ($p = 0,010$). Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron: fiebre, mialgia, cefalea y artralgia. El estudio no detectó casos de dengue grave.

Para la detección del genoma viral se estudiaron 113 muestras (93 muestras únicas y 20 muestras pareadas), y todas pertenecieron al DENV-1, evidenciándose hasta ese momento la circulación de un solo serotipo.

No se halló correlación entre los casos de dengue detectados en el estudio y los índices entomológicos en los 11 estratos de la ciudad de Posadas.

No existen trabajos publicados de esta índole en la región, por lo que estos resultados aportan información sobre la epidemiología en la ciudad de Posadas que contribuye al conocimiento local de la enfermedad.

7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El estudio tiene las siguientes limitaciones:

- Al ser un estudio unicéntrico y restringido a la población atendida en el IPS, los resultados obtenidos no resultan representativos de otras poblaciones de pacientes que integran el área de estudio (municipio de Posadas).
- La serie de pacientes estudiados no representa una muestra del total de pacientes de la obra social afectados por el brote de dengue, aunque contribuye con información relevante sobre aspectos clínicos y epidemiológicos.
- Ante la detección de un único serotipo circulante en 113 muestras estudiadas (56%), y la evidencia epidemiológica a nivel nacional y local, se consideró, a fin de optimizar los recursos disponibles, que ésta correspondía a una muestra significativa.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. Dengue Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control. Ginebra, Suiza; 2009.
2. Dengue | Disease of the Week | CDC [Internet]. [citado 14 de enero de 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dotw/dengue/index.html>
3. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013;496(7446):504-7.
4. Dengue Around the World | Dengue | CDC [Internet]. [citado 11 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dengue/areaswithrisk/around-the-world.html>
5. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Guía para el Equipo de Salud | dengue. 2016.
6. Kuno G, Chang G-JJ. Biological transmission of arboviruses: reexamination of and new insights into components, mechanisms, and unique traits as well as their evolutionary trends. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(4):608-37.
7. Weaver SC, Reisen WK. Present and future arboviral threats. *Antiviral Res*. 2010;85(2):328-45.
8. Knipe DM, Howley PM. *Fields virology* (Book, 2013). Sixyh. Philadelphia PA 19103 USA: Wolters Kluwer/ Lippincott Williams & Wilkins; 2016.
9. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Directrices para la prevención y control de *Aedes aegypti*. 2016.
10. CDC - Centers for Disease Control and Prevention [Internet]. [citado 14 de enero de 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/ncezid/dvbd/index.html>
11. CDC - Centro Nacional para Enfermedades Infecciosas Emergentes y Zoonóticas. Ciclo de vida del mosquito.

12. Tittarelli E, Mistchenko A, Viegas M. Estudio genético de los virus Dengue circulantes en los últimos años en Argentina. Universidad de Buenos Aires; 2017.
13. Velandia ML, Castellanos JEC. Dengue virus: structure and viral cycle. *Infectio*. 2011;15(1):33-43.
14. Enría D, Morales M, Fabbri C. Dengue. En: Ediciones Journal, editor. Libro de Infectología y Enfermedades Infecciosas. 1a ed. Buenos Aires; 2008. p. 638-42.
15. Avendaño L, Ferrés M, Spencer E. *Virología Clínica*. Mediterráneo Ltda., editor. 2011.
16. Méndez JA, del Bernal MP, de Calvache D, Boshell J. Genotipificación y análisis filogenético de cepas colombianas del virus Dengue Tipo 2. *NOVA*. 2003;1(1):37-43.
17. Guzman MG, Harris E. Dengue. *Lancet (London, England)*. 2015;385(9966):453-65.
18. Guzmán MG, García G, Kourí G. El dengue y el dengue hemorrágico: prioridades de investigación. *Pan Am J Public Heal*. 2006;19(3).
19. Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, et al. Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(12 Suppl):S7-16.
20. dos Passos Cunha M, Guimarães VN, Souza M, de Paula Cardoso D das D, de Almeida TNV, de Oliveira TS, et al. Phylodynamics of DENV-1 reveals the spatiotemporal co-circulation of two distinct lineages in 2013 and multiple introductions of dengue virus in Goiás, Brazil. *Infect Genet Evol*. 2016;43:130-4.
21. Usme-Ciro JA, Méndez JA, Laiton KD, Páez A. The relevance of dengue virus genotypes surveillance at country level before vaccine approval. *Hum Vaccines Immunother*. 2014;10(9):2674-8.
22. Holmes EC, Twiddy SS. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. *Infect Genet Evol*. 2003;3(1):19-28.
23. Cologna R, Armstrong PM, Rico-Hesse R. Selection for Virulent Dengue Viruses

- Occurs in Humans and Mosquitoes. *J Virol*. 2005;79(2):853-9.
24. Rico-Hesse R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. *Virology*. 1990;174(2):479-93.
 25. Rico-Hesse R, Harrison LM, Salas RA, Tovar D, Nisalak A, Ramos C, et al. Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. *Virology*. 1997;230(2):244-51.
 26. May Chu BC, O EJ, Trent DW. Genetic Relatedness among Structural Protein Genes of Dengue 1 Virus Strains. Vol. 70, *J. gen. Virol*. 1989.
 27. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam A V. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1992;30(3):545-51.
 28. Chan M, Johansson MA. The Incubation Periods of Dengue Viruses. Vasilakis N, editor. *PLoS One*. noviembre de 2012;7(11):e50972.
 29. Camacho-García DE, Ferrer E, Tenorio A, Franco L, Comach G. Epidemiología molecular de los virus Dengue. *Boletín Malariol y Salud Ambient*. 2012;52(1):1-13.
 30. Halstead SB. Neutralization and antibody-dependent enhancement of dengue viruses. *Adv Virus Res*. 2003;60:421-67.
 31. Rico-Hesse R. Dengue virus evolution and virulence models. *Clin Infect Dis*. 2007;44(11):1462-6.
 32. Muller DA, Depelsenaire ACI, Young PR. Clinical and Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection. *J Infect Dis*. 2017;215(suppl_2):S89-95.
 33. Kalayanarooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S, Green S, Suntayakorn S, Kunentrasai N, et al. Early Clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue Illness. *J Infect Dis*. 1997;176(2):313-21.
 34. Yacoub S, Wills B. Dengue: an update for clinicians working in non-endemic areas. *Clin Med (Northfield Il)*. 2015;15(1):82-5.

35. Halstead SB. Pathogenesis: Risk Factors Prior to Infection. En: Dengue. 2008. p. 219-56.
36. Rothman AL, Currier JR, Friberg HL, Mathew A. Analysis of cell-mediated immune responses in support of dengue vaccine development efforts. *Vaccine*. 10 de diciembre de 2015;33(50):7083-90.
37. Zulueta A, Martín J, Hermida L, Alvarez M, Valdés I, Prado I, et al. Amino acid changes in the recombinant Dengue 3 Envelope domain III determine its antigenicity and immunogenicity in mice. *Virus Res*. 2006;121(1):65-73.
38. Hesse RR. Dengue Virus Evolution and Virulence Models. *Clin Infect Dis*. 1 de junio de 2007;44(11):1462-6.
39. Lalle E, Colavita F, Iannetta M, Teklè SG, Carletti F, Scorzolini L, et al. Prolonged detection of dengue virus RNA in the semen of a man returning from Thailand to Italy, January 2018. *Eurosurveillance*. 3 de mayo de 2018;23(18).
40. Asociación Argentina de Microbiología [Internet]. [citado 12 de noviembre de 2019]. Disponible en: https://www.aam.org.ar/vermas-congresos_jornadas_cursos_talleres.php?n=398
41. Domingo C, Palacios G, Niedrig M, Cabrerizo M, Jabado O, Reyes N, et al. A New Tool for the Diagnosis and Molecular Surveillance of Dengue Infections in Clinical Samples. Vol. 28, *Dengue Bulletin*. 2004.
42. WHO | Questions and Answers on Dengue Vaccines. WHO. World Health Organization; 2018.
43. World Health Organization. Dengue vaccine: WHO position paper, July 2016 – recommendations. Vol. 35, *Vaccine*. Elsevier Ltd; 2017. p. 1200-1.
44. Dengue vaccine: WHO position paper, September 2018 - Recommendations. *Vaccine*. 14 de agosto de 2019;37(35):4848-9.
45. OMS | Estrategias de control [Internet]. [citado 9 de noviembre de 2019]. Disponible

en: https://www.who.int/denguecontrol/control_strategies/en/

46. WHO. Global Estrategy for Prevention and Control 2012 - 2020. 2012.
47. Chambers TJ, Hahn CS, Galler R, Rice CM. Flavivirus Genome Organization, Expression, and Replication. *Annu Rev Microbiol.* 1990;44(1):649-88.
48. Brady OJ, Gething PW, Bhatt S, Messina JP, Brownstein JS, Hoen AG, et al. Refining the Global Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus. Reithinger R, editor. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(8):e1760.
49. WHO. Dengue y Dengue grave [Internet]. 2019 [citado 1 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
50. Ferede G, Tiruneh M, Abate E, Wondimeneh Y, Gadisa E, Howe R, et al. A study of clinical, hematological, and biochemical profiles of patients with dengue viral infections in Northwest Ethiopia: implications for patient management. *BMC Infect Dis.* 4 de diciembre de 2018;18(1):616.
51. Secretaría de Gobierno de Salud. Boletín Integrado de Vigilancia N° 449 SE 17. 2019.
52. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Boletín Integrado de Vigilancia N° 319 - SE 29. 2016.
53. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Boletín Integrado de Vigilancia N° 340 - SE 51. 2016.
54. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Presidencia de la Nación (Argentina). Boletín Integrado de Vigilancia N° 433 - SE 51. 2018;433-SE51:8-17.
55. Servicio Meteorológico Nacional [Internet]. [citado 18 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.smn.gob.ar/estadisticas>
56. Ministerio de Turismo | Misiones. Todos tenemos Misiones [Internet]. [citado 25 de abril de 2019]. Disponible en: <http://www.misiones.tur.ar/>

57. Guerrero Borges V. Deforestación y fragmentación de la selva misionera: estrategias y herramientas para el diseño del paisaje. Tesis. 2012.
58. Díaz FA, Martínez RA, Villar LA, Villar LA. Criterios clínicos para diagnosticar el dengue en los primeros días de enfermedad. *Biomédica*. 1 de marzo de 2006;26(1):22.
59. Cazes CI, Carballo CM, Praino ML, Ferolla FM, Mistchenko A, Contrini MM, et al. Brote epidémico de dengue en la Ciudad de Buenos Aires, 2016: características clínicas y hematológicas de la infección en una población pediátrica. *Arch Argent Pediatr*. 2019;117(1):63-7.
60. Brathwaite Dick O, San Martín JL, Montoya RH, del Diego J, Zambrano B, Dayan GH. The History of Dengue Outbreaks in the Americas. *Am J Trop Med Hyg*. 3 de octubre de 2012;87(4):584-93.
61. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Situación de Dengue en Argentina. 2010.
62. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Boletín Integrado de vigilancia N° 307 - SE 17. 2016.
63. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Boletín Integrado de Vigilancia. 2015.
64. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Boletín Integrado de Vigilancia. Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de Situación de Salud. 2018;418-SE33:1-45.
65. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Boletín Integrado de Vigilancia N° 391 - SE 51. 2017.
66. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Presidencia de la Nación. Boletín Integrado de Vigilancia en Salud N° 471 - SE 44. 2019.
67. Ministerio de Salud Pública. Informe Epidemiológico Semanal N° 289 - SE 51.

- 2015.
68. Arias F. El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica. 2012. 21-34 p.
 69. Rodríguez M, Mendivelso F. Diseño de investigación de corte transversal. 2018;141-7.
 70. Organización Mundial de la Salud. Promoción de la Salud Glosario [Internet]. Ginebra, Suiza; 1998 [citado 2 de diciembre de 2019]. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67246/WHO_HPR_HEP_98.1_spa.pdf;jsessionid=638B2475389C42D85CDE960DEF70D603?sequence=1
 71. OPS/OMS | ANEXO I: Glosario [Internet]. [citado 2 de diciembre de 2019]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10810:2015-anexo-i-glosario&Itemid=41421&lang=es
 72. Ministerio de Salud de Brasil. Levantamiento Rápido de Índices para Aedes Aegypti-LIRAA-para vigilancia entomológica de Aedes Aegypti en Brasil. 2015.
 73. INDEC: Instituto Nacional de Estadística y Censos de la República Argentina [Internet]. [citado 25 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.indec.gov.ar/>
 74. Ministerio de Salud Pública. Informe Epidemiológico Semanal N° 307 SE 17. 2016.
 75. Carrión W, Bell Castillo J, García Céspedes ME, Bell M de J. Aspectos clínico-epidemiológicos en pacientes con dengue y signos de alarma. MEDISAN. 2018;22(7):540-51.
 76. Tittarelli E, Barrero PR, Mistchenko AS, Valinotto LE. Secondary dengue virus infections during the 2009 outbreak in Buenos Aires. 2016;21(1):28-32.
 77. García-Gutiérrez M del R, Romero-Zepeda H, Romero-Márquez RS. Factores de riesgo en la epidemia de dengue en Querétaro. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2013;51(6):628-34.

78. Tittarelli E, Lusso SB, Goya S, Rojo GL, Viegas M, Mistchenko AS, et al. Dengue Virus 1 Outbreak in Buenos Aires, Argentina, 2016. *Emerg Infect Dis.* 2017;23(10):2016-7.
79. Peláez Sánchez O, Tejera Díaz JF, Catañeda M, del Risco León JL, Guzmán Tirado MG, Mas Bermejo P. La vigilancia clínico seroepidemiológica del dengue en La Habana , 1997-2016. *Rev Cub Med Trop.* 2018;70(2):1-17.
80. Nunes-Araújo FRF, Ferreira MS, Nishioka S de A. Dengue fever in Brazilian adults and children: assessment of clinical findings and their validity for diagnosis. *Ann Trop Med Parasitol.* 29 de junio de 2003;97(4):415-9.
81. Levett PN, Branch SL, Edwards CN. Detection of dengue infection in patients investigated for leptospirosis in Barbados. *Am J Trop Med Hyg.* enero de 2000;62(1):112-4.
82. Chadwick D, Arch B, Wilder-Smith A, Paton N. Distinguishing dengue fever from other infections on the basis of simple clinical and laboratory features: Application of logistic regression analysis. *J Clin Virol.* febrero de 2006;35(2):147-53.

CAPÍTULO V

ANEXO 1



**Ministerio de Salud
PRESIDENCIA DE LA NACION**

FICHA DE INVESTIGACION DE CASOS DE SINDROME FEBRIL

SF

Definición de caso sospechoso: Persona de cualquier edad y sexo que presenta fiebre, de menos de siete (7) días de duración, acompañado de mialgias o cefalea, sin afección de las vías aéreas superiores y sin etiología definida.

1. DATOS DEL DECLARANTE												
Provincia: _____			Departamento: _____			Localidad: _____						
Establecimiento Notificante: _____						Fecha de Notificación: ____/____/____						
Apellido y Nombre del Profesional: _____												
Tel.: _____			Fax: _____			e-mail: _____						
2. IDENTIFICACION DEL PACIENTE												
Apellido y nombres: _____												
Fecha de nacimiento ____/____/____			Edad: _____			Sexo: M () F ()			DNI: _____			
Domicilio actual: _____						Tel. propio o vecino: _____						
Referencia de ubicación domicilio: _____						Localidad _____						
Urbano () Rural () Departamento _____						Provincia _____						
3. DATOS CLINICOS												
Fecha de inicio de la fiebre: ____/____/____						Fecha de la consulta: ____/____/____						
	Si	No	Ign.		Si	No	Ign.		Si	No	Ign.	
Fiebre (..... 38° C)				Dolor abdominal				Hepatomegalia				
Cefalea				Inyección conjuntival				Esplenomegalia				
Mialgias				Tos				Oligoanuria				
Artralgias				Disnea				Sind. confusional				
Dolor retro ocular				Taquipnea				Sind. meningeo				
Erupción				Prurito				Encefalitis				
Náuseas				Ictericia				Sind. Hemorrágico*				
Vómitos				(*) Especificar (marcar con una cruz): petequias...; púrpura...; epistaxis...; gingivorragia...;								
Diarrea				hemoptisis...; melena...; vómitos negros...; otros.....								
Tensión: MIN/MAX..... Pulso:...../min. Prueba del torniquete: POS () NEG ().FR...../min												
Hto:.....% GB:...../mm3. Fórmula:/...../...../..... Plaq:...../mm3. VSG:.....mm												
4. DATOS EPIDEMIOLOGICOS												
Ocupación de riesgo: _____ Lugar de trabajo: Urbana () Periurb () Rural () Silvestre ()												
Viajó durante los últimos 45 días? Si () No () Fecha: ____/____/____ Destino _____												
Estuvo en el campo, monte, lugar de recreación? Si () No () Fecha: ____/____/____ Lugar _____												
Conoce casos similares? Si () No () Quiénes? _____												
ANTECEDENTE DE VACUNACIÓN (confirmar con carnet)												
Antiamarilla: Si () No () Ign () Última fecha de vacunación: ____/____/____												
Fiebre Hemorrágica Argentina: Si () No () Ign () Última fecha de vacunación: ____/____/____												
SOSPECHA CLINICA EPIDEMIOLOGICA												
(calificar por n° de orden) Paludismo () Dengue () Fiebre Amarilla () Leptospirosis () FHA () Hantavirus ()												
Rickettsiosis () Virus del Oeste del Nilo () Encef. de San Luis () Otros: _____												
Tratamiento empírico indicado (tipo y dosis) _____												



Definición de caso sospechoso: Persona de cualquier edad y sexo que presenta fiebre, de menos de siete (7) días de duración, acompañado de mialgias o cefalea, sin afección de las vías aéreas superiores y sin etiología definida.

5. DATOS DE LABORATORIO

Fecha de la 1ª muestra: ___/___/___ Resultado: _____ Método: _____
Fecha de la 2ª muestra: ___/___/___ Resultado: _____ Método: _____

6. ACCIONES DE CONTROL Y PREVENCIÓN

Tratamiento indicado al paciente: _____

Droga utilizada para el tratamiento: _____ Cantidad aplicada (Dosis): _____

Identificación de contactos o expuestos: Si () No () Nº de contactos o expuestos identificados: _____

Quimioprofilaxis a contactos o expuestos: Si () No () Nº de profilaxis indicadas: _____

Droga utilizada para la profilaxis: _____ Cantidad aplicada (Dosis): _____

Bloqueo con vacunas: Si () No () Nº de vacunas aplicadas: _____

Bloqueo con insecticidas, rodenticidas, etc.: Si () No () Nº de viviendas controladas: _____

Sitios de riesgo controlados (basurales, cementerios, etc.): Si () No () ¿Cuales?: _____

Insecticida/rodenticida/biocida utilizado: _____ Cantidad aplicada: _____

¿Se hizo tratamiento espacial? Si () No ()

Insecticida utilizado para tratamiento espacial: _____ Cantidad aplicada: _____

7. EVOLUCION Y CLASIFICACION DEL CASO

Paciente Hospitalizado: Si () No () Ign () Fecha hospitalización: ___/___/___

Condición del alta: _____ Fecha del alta: ___/___/___

Fecha de defunción: ___/___/___

Diagnóstico final: _____ Fecha: ___/___/___

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio del presente documento, y teniendo plena capacidad de mis facultades mentales, doy mi consentimiento y me ofrezco voluntariamente para participar de la investigación “Factores clínico-epidemiológicos y serotipos circulantes del virus Dengue en el brote ocurrido en 2016 en Posadas, Misiones”.

Entiendo que este estudio empleará muestras de sangre que serán utilizadas para la detección de infección por el virus dengue.

Sé que la información que sobre mí se obtenga como producto de la participación de este estudio podrá ser empleada en ámbitos científicos para favorecer el adelanto de las Ciencias Biomédicas, bajo la condición de que se preservará el carácter de **confidencialidad** de mi persona y de cualquier dato vinculante a la identidad de la misma.

Tengo conocimiento que los investigadores responsables de este proyecto están en un todo de acuerdo y adoptan los principios éticos, legales y jurídicos para las investigaciones médicas en seres humanos descriptas en las normas bioéticas nacionales (*Disp. ANMAT 5330/97*) e internacionales (*Código de Nüremberg, Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial y sus modificaciones Humanos de la UNESCO 2013*).

Dejo explícito que se me ha puesto en conocimiento del significado de mi participación voluntaria, la duración y finalidad del estudio, los métodos diagnósticos a ser empleados y el alcance de los resultados a ser obtenidos. Así mismo he tenido la oportunidad de realizar preguntas referidas a este estudio y las respuestas recibidas han sido todas satisfactorias.

Apellido y Nombre:	
Firma:	Lugar y Fecha:
Aclaración:	Nº de Documento:
Dirección:	

***El proyecto fue evaluado por el comité de ética del Hospital Provincial de Pediatría “Dr. Fernando Barreyro” de la Provincia de Misiones, dependencia del Ministerio de Salud de Misiones.**