

ARTICULO ORIGINAL

Frecuencia de dengue durante el brote epidémico en individuos que acudieron al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS), desde Febrero a Abril del 2007**Frequency of dengue during an epidemic outbreak in subjects that attended the Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud from February to April 2007*****Carpinelli M, Picaguá E, Rovira C, Giménez V, Ferreira L, Rodas J**

Departamento de Inmunología. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Asunción (UNA).Paraguay

RESUMEN

El dengue en Paraguay es una infección de circulación relativamente reciente ya que la transmisión fue detectada por primera vez en los años 1988-89. El comportamiento de la enfermedad y la circulación de los tres serotipos (DEN 1, 2 y 3), entre los años 2000 y 2006, muestra el elevado riesgo de epidemias y de aparición del dengue hemorrágico. Nuestro objetivo fue determinar la prevalencia de IgG e IgM del virus dengue en individuos adultos, de ambos sexos, provenientes de áreas urbanas y rurales del Paraguay, que concurren al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud entre febrero y abril del 2007. Se realizó un estudio observacional, descriptivo donde fueron incluidos 605 pacientes. Las determinaciones de IgM e IgG se realizaron por el método de ELISA de captura e indirecto respectivamente. De los 605 pacientes, 64% (388/605) pertenecían al sexo femenino, con edad promedio de $31,9 \pm 13,5$ años. Del área urbana provinieron el 80% (482/605), 13% (79/605) del área rural y del 7% restante no se obtuvieron datos. Del total de pacientes estudiados, 20 % (121/605) fueron positivos para IgM, de quienes 55 % (67/121) eran del sexo femenino. La determinación de IgG, se realizó en 157 pacientes (según solicitud), de los cuales 61% (96/157) resultaron negativos y 39 % (61/157) positivos. Según la frecuencia encontrada, es recomendable un plan integral sostenible en la lucha contra el dengue, para desarrollar estrategias de vigilancia epidemiológica, prevención y control de esta enfermedad considerando el alto riesgo para la ocurrencia de brotes de dengue hemorrágico.

Palabras claves: Dengue, prevalencia, ELISA.**ABSTRACT**

In Paraguay, dengue is an infection with a relatively recent circulation because it was first detected in the period 1988-89. The disease behaviour and circulation of the three serotypes (DEN 1, 2 and 3) between 2000 and 2006 show the high risk of epidemics and the appearance of the hemorrhagic dengue. Our objective was to determine the prevalence of IgG and IgM antibodies against dengue virus in male and female adult subjects, from urban and rural areas of Paraguay, which attended the IICS between February and April 2007. An observational, descriptive study was carried out including 605 patients and IgG and IgM antibodies were determined by using MAC ELISA and indirect ELISA respectively. Out of the 605 studied patients, 64% (388/605) was women and the population average age was 31.9 ± 13.5 years. Eighty percent (482/605) came from urban areas and 13% (79/605) from rural areas. Out of the 605 subjects, 20% (121/605) were IgM positive being 55% (67/121) of them females. The IgG determination was made in 157 patients (by request), 61% (96/157) were negative and 39% (61/157) positive. According to the

*Autor Correspondiente: **Dra. Mercedes Carpinelli**, Departamento de Inmunología.

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Río de la Plata y Lagerenza. Asunción-Paraguay

Email: mercedescarpinelli@hotmail.com

Fecha de recepción: enero de 2009, fecha de aceptación: noviembre de 2009

frequency found in this study, it is recommendable to implement an integral and sustainable plan against dengue in order to develop epidemiologic surveillance, prevention and control strategies considering the high risk of occurrence of hemorrhagic dengue outbreaks.

Keywords: Dengue, prevalence, ELISA.

INTRODUCCION

El dengue es un problema de salud pública muy importante en la actualidad, su diseminación con características epidémicas y endemo-epidémicas en extensas áreas de regiones tropicales y subtropicales de Asia, África, América, Australia y Oceanía, han hecho que la OMS considere al dengue como la segunda infección re-emergente más importante entre las enfermedades tropicales y como una de las principales enfermedades virales transmitidas al hombre por mosquitos vectores, principalmente *Aedes aegypti* (1-3).

El grupo virus dengue está representado por 4 serotipos (o subespecies) conocidos como DEN-1, 2, 3, 4, los cuales exhiben características antigénicas y serológicas diferentes y además pueden presentar variantes genéticas (genotipos y topotipos) dentro de un mismo serotipo relacionadas con la virulencia y la procedencia geográfica de la cepa (4,5).

Clínicamente, la enfermedad puede manifestarse como una forma benigna autolimitada de fiebre indiferenciada llamada fiebre por dengue (FD), o como formas más severas como la fiebre hemorrágica del dengue (FHD) y síndrome de choque por dengue (SCD), las cuales pueden ser fatales para el individuo (6, 7). El desarrollo de FHD / SCD parece estar asociado a múltiples factores, como las características propias del hospedador, la virulencia de la cepa viral y la respuesta inmunológica; aún cuando estas interdependencias no han sido completamente definidas (5, 6, 8).

La enfermedad ha mantenido una tendencia ascendente en los últimos 7 años. Se estima que cerca de 2.5 millones de personas procedentes de zonas urbanas, peri urbanas y rurales están en riesgo de contraer la infección en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, con una incidencia anual de 50-100 millones de casos de FD y de 25-500 mil casos de FHD (6-8).

Los síntomas clínicos del dengue pueden variar entre distintos individuos. Estos síntomas inespecíficos incluyen fiebre, cefalea, dolor retro orbital, mialgias, artralgias, prurito, náuseas, vómito y debilidad general, con duración de 5 a 14 días (5,8).

El dengue en el mundo alcanza 50 millones de casos anuales, de los cuales 500.000 deben ser hospitalizados por fiebre hemorrágica de dengue y alrededor de 20.000 mueren (2-4). A partir de 1980, el problema del dengue en las Américas ha recrudecido notablemente (6,8).

Es necesario para un buen diagnóstico clínico y diferencial evaluar al paciente en forma individual, en el contexto de la epidemiología de cada lugar y época (9). Para el diagnóstico serológico, se requiere una muestra de suero en la etapa convaleciente obtenida al menos 6 días después de la fecha de comienzo del primer síntoma (10). El anticuerpo IgM contra el virus del dengue se desarrolla rápidamente, de manera que hacia el quinto día de la enfermedad, el 80% de los casos tiene ya anticuerpos detectables, hacia los días 6 a 10 de la enfermedad el 93-99% de los pacientes poseen anticuerpos detectables. En infecciones no primarias, la respuesta de anticuerpos IgM es variable, en algunas ocasiones está ausente o es muy baja, pero existe un marcado incremento de los tipos IgG (11).

En nuestro país entre 1988-89 se produjo la re-introducción del dengue, a serotipo DEN-1, principalmente en el área metropolitana de Asunción. En el año 1999 se originó un segundo brote extendiéndose hasta el 2000 con la circulación del serotipo DEN-1. En el

2001 circuló DEN-2, entre marzo y abril del 2006 se registra un brote de dengue a serotipo DEN-3 y desde entonces, el virus no deja de circular en el país. La circulación de estos 3 serotipos diferentes aumenta el riesgo de FHD. Es así que en la epidemia del 2007 ya se registra FHD incluso con casos fatales (12).

La enfermedad tiene un período de incubación de 3 a 14 días y varias formas de presentación: manifestaciones clínicas benignas o producir un cuadro más severo, el de la fiebre hemorrágica y el síndrome de choque por dengue. Con métodos serológicos se pueden distinguir 4 serotipos. La infección del hombre por un serotipo produce inmunidad para toda la vida contra la re-infección con ese serotipo, pero sólo protección temporal y parcial contra los otros. En el curso de la infección primaria, se producen anticuerpos neutralizantes capaces de proteger contra la re-infección con ese mismo serotipo y durante solo 6 meses a 1 año contra los otros serotipos. El factor de riesgo principal de sufrir DH es tener una segunda infección con un serotipo diferente del que causó la infección primaria, además de las personas que sufren enfermedades crónicas como el asma y la diabetes y tener menos de 15 años (13).

Considerando, que en nuestro país ante la epidemia del dengue, en enero del 2007, el Poder Ejecutivo de la República del Paraguay, decretó alerta epidemiológica debido a la rápida difusión de esta enfermedad, y en febrero del mismo año el Congreso de la Nación aprobó un proyecto de ley que declara el estado de emergencia nacional, el objetivo de este estudio fue investigar la frecuencia de IgG e IgM del dengue virus en individuos que concurren al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud desde febrero a abril de 2007.

METODOLOGIA

En este estudio observacional, descriptivo de corte transversal, fueron estudiados 605 individuos de ambos sexos, con edad comprendida entre 16 y 75 años que concurren al Laboratorio del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) de la Universidad Nacional de Asunción donde se atienden a pacientes provenientes de cualquier parte del país y de diferentes niveles socioeconómicos, los cuales acudieron para el análisis de anticuerpos IgG e IgM contra el virus del dengue durante la epidemia de febrero a abril de 2007, a quienes se les extrajo sangre venosa, sin anticoagulante y separó el suero en viales rotulados con el código del paciente, congelándose a -20° C hasta el momento del procesamiento.

Para la determinación de anticuerpos IgM por el método ELISA de captura anti-dengue (MAC-ELISA), se midió el nivel sérico de IgM utilizando un kit comercial (Focus Technologies Inc, Cypress, CA, EE.UU.) contra los 4 tipos del virus dengue, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se utilizaron microplacas de poliestireno cubiertas con anticuerpo antihumano específico para IgM. Los controles negativos y positivos, el calibrador y las muestras diluidas fueron incubados en los pocillos y el anticuerpo IgM presente se unió al anticuerpo anti-humano (IgM específico). El antígeno fue añadido a los pocillos y luego un anti dengue virus de ratón conjugado con peroxidasa de rábano de caballo. El desarrollo del color se realizó con un sustrato enzimático y cromógeno. Se añadió el reactivo de paro, se realizó la lectura a una densidad óptica de 405 nm con filtro de referencia de 630 nm en un lector de ELISA (Human, Alemania).

Para la determinación de anticuerpos IgG ELISA indirecto, se midió el nivel sérico de IgG con un kit comercial (Focus Technologies Inc, Cypress, CA, EE.UU.), siguiendo las indicaciones del fabricante. Se utilizaron microplacas de poliestireno cubiertas con proporciones iguales de los 4 tipos de los virus dengue inactivados y purificados. Las muestras diluidas y los controles fueron incubados en los pocillos para permitir que los anticuerpos específicos presentes en las muestras reaccionen con el antígeno. Se agregó un anti-IgG humano conjugado con peroxidasa que reaccionó con IgG específica.

Luego de añadir el sustrato enzimático y el cromógeno se desarrolló el color. Después del reactivo de parada, el cambio de color se cuantificó por lectura a una densidad óptica de 405 nm en un lector de ELISA (Human, Alemania).

Análisis estadístico: Los datos fueron cargados en una planilla electrónica (Excel) y analizados mediante el paquete estadístico Epi Info 2000. Se aplicó estadística descriptiva para el análisis de los datos.

RESULTADOS

Características demográficas: El 36% (217/605) pertenecían al sexo masculino, y 64% (388/605) al sexo femenino, de edad promedio $31,9 \pm 13,5$ años. Del área urbana provinieron el 80% (482/605) y 13% (79/605) del área rural.

Determinación de IgM: De los 605 pacientes, 80% (484/605) fueron negativos para IgM y 20% (121/605) positivos y de estos 121 pacientes IgM positivos, 55% (67/121) eran del sexo femenino y 45% (54/121) del masculino (Figura 1).

Determinación de IgG: La determinación de IgG se realizó en 157 pacientes (de acuerdo a la solicitud de los mismos), de los cuales 61% (96/157) resultaron negativos y 39% (61/157) positivos (Figura 2).

Se puede observar que la frecuencia del anticuerpo IgM contra el virus dengue fue de 20% (121/605) y de IgG fue de 39% (61/157) en la población estudiada.

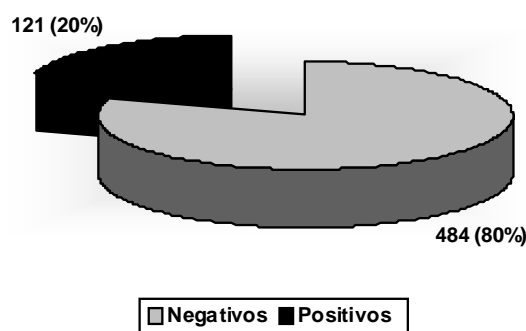


Figura 1. Pacientes dengue IgM positivos y negativos. n = 605

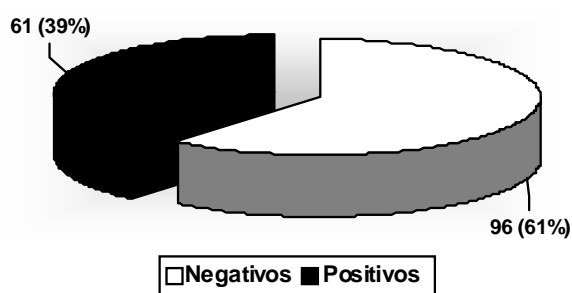


Figura 2. Pacientes dengue IgG positivos y negativos. n=157

DISCUSIÓN

A partir de 1980, el dengue en las Américas se ha recrudecido notablemente con la circulación simultánea y secuencial de múltiples serotipos (8), ocasionando en los últimos años severas epidemias, así como el desarrollo de períodos hiperendémicos, situación que ya se presentó en nuestro país.

Según el Boletín Epidemiológico del MSP y BS, hasta marzo del 2007, se han confirmado 20643 casos de dengue clásico (11), no precisando si se trataban de una infección primaria o secundaria.

En este estudio de frecuencia realizado en los pacientes que han concurrido al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud durante el brote epidémico de febrero a abril del 2007, se ha encontrado una prevalencia de 20% para IgM en 605 pacientes analizados y un 39% para IgG en 157 pacientes.

Comparando los resultados de este trabajo con otros estudios realizados durante brotes epidémicos en Brasil, en el año 1998 se observó en Fortaleza una seroprevalencia de anticuerpo IgG del 44,6% (14), en 1991 en Río de Janeiro de 44,5% (15) y en 1999 en São Luís de 41,5% (16). En el año 2004 en Goiania en el centro de Brasil, se encontró una seroprevalencia de IgG del dengue del 29,5% (17), en la zona de Ceará de 44% (15). Estos resultados son similares a los encontrados en nuestro estudio, lo que sugiere una elevada circulación del virus dengue con sus diferentes serotipos en nuestra región.

En el Ecuador en una localidad considerada de alta incidencia, durante el brote epidémico en ese país (año 2000) se observó 3,43% (13/379) de personas con infección primaria reciente y 3,43% con infección secundaria reciente y 216 personas (56,9%) con infección pasada (meses o años) (18). Nuestros resultados para infección reciente (IgM) son mucho mayores a los del mencionado país, aunque existe coincidencia en la mayor positividad de IgM en el sexo femenino.

La frecuencia de IgG encontrada, demuestra que una proporción muy alta de la población está expuesta a una pre infección con el peligro de que se desencadene fiebre hemorrágica del dengue. Estos datos deben considerarse de importancia durante los brotes epidémicos de las formas graves de la enfermedad como lo ocurrido en nuestro país durante la epidemia de 2007, también referido por otros autores (1).

Considerando que el dengue en el mundo alcanza 50 millones de casos anuales, de los cuales 500.000 deben ser hospitalizados por fiebre hemorrágica de dengue, alrededor de 20.000 mueren (1) y la prevalencia encontrada en estas regiones, es importante establecer una permanente vigilancia epidemiológica en nuestro país, teniendo en cuenta la situación existente, la cual causa trastornos para la salud de los pobladores y para la dinámica social incluyendo las consecuencias económicas derivadas.

De acuerdo a la frecuencia encontrada en esta población estudiada, es recomendable un plan integral sostenible en la lucha contra el dengue, para el desarrollo de estrategias, prevención y control de esta enfermedad considerando el alto riesgo para la ocurrencia de brotes de fiebre hemorrágica del dengue.

BIBLIOGRAFIA

1. Guzmán MG, Kouri G. Dengue: and update. *The Lancet Infect Dis* 2002; 2(1):33-42.
2. Guzmán MG, Kouri G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. *J Clin Virol* 2003; 27(1):1-13.
3. Siqueira JB Jr, Martelli CM, Coelho GE, Simplicio AC, Hatch DL. Dengue and dengue hemorrhagic fever, Brazil, 1981-2002. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(1):48-53.
4. Monath TP, Heinz FX. Flavivirus. En: Fields BN, Kinipe DM, Howley PM, Chanock RM, Melnick JL, Monath TP, et al, Editors. *Fields Virology*. 3ª ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996.
5. Rico-Hesse R. Molecular Evolution and distribution of dengue virus type 1 and 2 in nature. *Virology* 1990; 174(2): 479-93.
6. Rodhain F. The situation of dengue in the world. *Bull Soc Pathol Exot* 1996; 89(2): 87-90.
7. Gibbons RV, Vaughn DW. Dengue: an escalating problem. *Clinical review BMJ* 2002; 321:1563-6.

8. Pan American Health Organization. Dengue in Central America: The epidemic of 2000. *Epidemiol Bull* 2000; 21(4): 4-8.
9. Hannaoui R, Erika J, Sulbaran MZ, Campos GMA. Características clínicas y parámetros hematológicos de pacientes con fiebre dengue y mononucleosis infecciosa. *Kasmera* 2005; 32(2): 1-9.
10. Centro para el control y prevención de las enfermedades de los Estados Unidos. Dengue y dengue hemorrágico. Información para los médicos. [En línea] 2000. (acceso 20 de febrero de 2004). URL disponible en: http://geosalud.com/enfermedades_infecciosas/dengue_hemorragico.htm.
11. Paraguay. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Epidemia de dengue en Paraguay. *Boletín epidemiológico semanal MSP y BS* 2007. 11(5):1.
12. Paraguay. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Epidemia de dengue en Paraguay *Boletín epidemiológico semanal MSP y BS* 2007; 5(6):1.
13. Paraguay. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Epidemia de dengue en Paraguay *Boletín epidemiológico semanal MSP y BS* 2007; 3(5):1.
14. Vasconcelos PFC, Lima JWO, Travassos da Rosa APA, Timbó MJ, Travassos da Rosa ES, Lima HR, et al. Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito soro-epidemiológico aleatório. *Revista de Saúde Pública* 1998; 32(5): 447-54.
15. Figueiredo LTM, Cavalcante SMB, Simoes MC. Encuesta serológica sobre el dengue entre escolares de Rio de Janeiro, Brasil, 1986 y 1987. *Boletim da oficina Sanitaria Panamericana* 1991; 111(6): 525-33.
16. Vasconcelos PFC, Lima JW, Raposos ML, Rodriguez SG, Travassos da rosa, JFS, Amorim SMC, et al. Inquérito soroepidemiológico na Ilha de Sao Luís durante epidemia de dengue no Maranhao. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1999; 32(2): 171-9.
17. Siqueira JB, Martelli CM, Maciel IJ, Oliveira RM, Ribeiro MG. Household survey of dengue infection in central Brazil: spatial point pattern analysis and risk factors assessment. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 71(5):646-51.
18. Real Cotto J, Alava A, Mosquera C, Russel K y Watts D. Seroprevalencia de dengue en la ciudad de Guayaquil y Durán. *Revista Científica (online)*. 2000 Abril. (acceso enero 2009); 2(2). Disponible en: <http://www.medicasecuador.com/>.